

**LAPORAN PENELITIAN
HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN
SESUAI PRIORITAS NASIONAL BATCH I
TAHUN ANGGARAN 2009**



1000456

**PENGARUH PENGOBATAN SUPORTIF VITAMIN D
TERHADAP KONVERSI SPUTUM DAN PERUBAHAN
KADAR TNF-ALFA PENDERITA TUBERKULOSIS
PARU**

Oleh :

dr. Siswanto, MSc

dr. Yanti Jane R. Sugiri, SpP

dr. Oryana Agustin Widayanti, SpP

Dibiayai Oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen
Pendidikan Nasional, Sesuai Dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan
Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai Prioritas Nasional, Nomor :
174/SP2H/PP/DP2M/V/2009

**Universitas Brawijaya
Malang
2009**

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN PENELITIAN HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN SESUAI PRIORITAS NASIONAL BATCH II

1. Judul Penelitian : Pengaruh Pengobatan Suportif Vitamin D Terhadap Konversi Sputum dan Kadar TNF- α Penderita Tuberkulosis Paru
2. Ketua Peneleti
 - a. Nama lengkap dan gelar : dr. Siswanto, MSc
 - b. Jenis kelamin : l
 - c. NIP. : 19510110 198103 1003
 - d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 - e. Jabatan Struktural : .
 - f. Bidang Keahlian : Epidemiologi
 - g. Fakultas/Jurusan : Kedokteran
 - h. Perguruan Tinggi : Universitas Brawijaya, Malang
 - i. Tim Peneleti

NAMA	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS/JURUSAN	PERGURUAN TINGGI
dr. Yani Jane R. Sugtri, SpP	Ilmu Penyakit Paru	Staff SMF Paru / Fakultas Kedokteran	Universitas Brawijaya
Dr.Oeryana Agustin Widayanti, SpP	Ilmu Penyakit Paru		

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian
 - j. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 10 bulan
 - k. Biaya Total yang diusulkan : Rp. 87.200.000
 - l. Biaya yang disetujui tahun 2009 : Rp. 73.675.000

Malang, 2 Desember 2009
Mengetahui,
Dekan Fakultas / Ketua Pusat
Fakultas

Ketua Peneliti,

Dr.dr. Samsul Islam, SpMK, MKes
NIP. 194807241980031002

dr.Siswanto, M.Sc
NIP. 195101101981031003

Menyetujui,
Lembaga Penelitian dan
Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Brawijaya
Ketua

Prof.Dr.Ir. Siti Chuzaemi, MS
NIP. 19530514 198002 2 001

ABSTRAK

PENGARUH PENGOBATAN SUPORTIF VITAMIN D TERHADAP KONVERSI SPUTUM, PERUBAHAN KADAR TNF-ALFA PENDERITA TUBERKULOSIS PARU**SISWANTO¹, YANI JANE², OERYANA AGUSTIN W³**Staf pengajar ilmu kesehatan masyarakat fakultas kedokteran Unibraw¹,
Staf SMF Ilmu Penyakit Paru Rumah Sakit Daerah dr. Saiful Anwar²Mahasiswa program pendidikan dokter spesialis 1 Penyakit Paru Rumah
Sakit Daerah dr. Saiful Anwar³.

Tuberkulosis paru tetap menjadi problem kesehatan yang penting di Asia Tenggara terutama Indonesia. Kegagalan terapi tuberkulosis terutama karena gagal pengobatan dan terjadinya *multiple drugs resistant*. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Vitamin D meningkatkan cathelicidin intrasekuler yang berpotensi membunuh *Mycobacterium tuberculosis*.

Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh Vitamin D sebagai terapi suportif pada tuberkulosis paru dengan parameter perbaikan konversi sputum, perbaikan gambaran radiologis dan kadar TNF-alfa diserum serta mengukur kadar 25-hidroksivitamin D.

Penelitian dilakukan dengan desain *Double-blind randomized control trial* penderita tuberkulosis yang mendapatkan pengobatan tuberkulosis standar yang telah memenuhi kriteria inklusi dilakukan acak dan akan terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok 1 tidak diberi vitamin D dan kelompok 2 diberi vitamin D (800iu/hari). Kedua kelompok dievaluasi menggunakan parameter konversi sputum, gambaran radiologis setiap bulan selama dua bulan dan kadar TNF-alfa di serum. Dilakukan pengukuran kadar 25-hidroksivitamin D sebelum dan sesudah terapi tuberkulosis selama dua bulan.

Pada bulan pertama kelompok dengan Vitamin D (67%) terjadi konversi sputum dibandingkan kelompok tanpa Vitamin D (34%; $p=0,04$). Terdapat perbaikan radiologis lebih besar pada kelompok dengan Vitamin D (67%) dibandingkan dengan kelompok tanpa Vitamin D (18%; $p=0,002$). Pada bulan kedua kelompok dengan Vitamin D terdapat jumlah konversi sputum yang lebih besar (95%) dibandingkan dengan kelompok tanpa Vitamin D (77%; $p=0,18$) tapi tidak bermakna. Perbaikan radiologis juga terjadi lebih banyak pada kelompok dengan Vitamin D (76%) dibandingkan dengan kelompok tanpa Vitamin D (45%; $p=0,06$) tapi juga tidak bermakna. Rerata kadar 25-hidroksivitamin D sebelum terapi terdistribusi rata antara kedua kelompok; $p = 0,62$, dan adanya peningkatan kadar 25-hidroksivitamin D pada kelompok dengan Vitamin D sebelum dan sesudah dua bulan setelah pengobatan ber turut turut $19,52 \pm 8,99$; $34,20 \pm 11,11$; p value 0,00.

Penelitian menunjukkan Vitamin D dapat meningkatkan kesembuhan penderita tuberkulosis yaitu dengan parameter percepatan konversi sputum dan perbaikan gambaran radiologis.

Kata kunci: tuberkulosis paru, konversi sputum, vitamin D dan interlekin

ABSTRACT

THE EFFECT OF VITAMIN D AS SUPPORTING TREATMENT ON THE IMPROVEMENT OF SPUTUM CONVERSION AND CHANGE OF TNF-ALFA SERUM LEVEL IN PULMONARY TUBERCULOSIS

Staf pengajar ilmu kesehatan masyarakat fakultas kedokteran Unibraw¹,
 Staf SMF Ilmu Penyakit Paru Rumah Sakit Daerah dr. Saiful Anwar²
 Mahasiswa program pendidikan dokter spesialis I Penyakit Paru
 Rumah Sakit Daerah dr. Saiful Anwar³

Pulmonary Tuberculosis remains as a major health problem in South East Asia as well as Indonesia. The failure of tuberculosis treatment mostly due to drop-out and multiple drugs resistant. Previous study showed that Vitamin D increase the intracellular cathelicidin which has potency to kill the *Mycobacterium tuberculosis*.

This research was aimed to identify the effect of Vitamin D as supportive treatment in Pulmonary Tuberculosis on the improvement of sputum conversion and radiographic finding and determine 25-hidroksivitamin D serum concentration.

A Double-blind randomized control trial, was carried out in two random allocated patient group with standard tuberculosis treatment. The first group was treated with Vitamin D (800 iu/day) while the other was not. Subjects were evaluated using three parameters i.e. sputum conversion, radiographic finding every month for two months and TNF-alfa serum concentration. 25-hidroksivitamin D level was determined in both groups before and after two months after standard tuberculosis treatment.

In the first month, the group with Vitamin D (67%) have significantly higher proportion of sputum conversion compared to non Vitamin D group (34%; $p=0.04$). The improvement in radiographic finding also significantly higher in Vitamin D group (67%) compared to non Vitamin D group (18%; $p=0.002$). In the second month the group with Vitamin D (95%) have higher proportion of sputum conversion compared to non Vitamin D group (77%; $p=0.18$) but not significant. The improvement in radiographic finding also higher in Vitamin D group (76%) compared to non Vitamin D group (45%; $p=0.06$) but not significant. Mean of 25-hidroksivitamin D level pre study was normal in distribution; p value 0,62, and 25-hidroksivitamin D level improvement in Vitamin D group before and after two months standard tuberculosis treatment consecutively $19,52 \pm 8,99$; $34,20 \pm 11,11$; p value 0,00.

Vitamin D has supportive effect in Pulmonary Tuberculosis patient to improve the healing process as shown by faster improvement in sputum conversion and radiographic finding.

Key words : pulmonary tuberculosis, sputum conversion, Vitamin D, interleukin

PRAKATA

Segala puji hanya bagi Allah SWT atas petunjuk dan hidayahNYA, penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul : Pengaruh pengobatan suportif Vitamin D terhadap konversi sputum dan perubahan kadar TNF-alfa penderita tuberkulosis paru. Adapun penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh vitamin D terhadap percepatan konversi sputum dan perubahan kadar TNF- alfa dalam serum. Telah banyak di ketahui bahwa terdapatnya bakteri mikobakterium di sputum merupakan salah satu faktor yang memudahkan penularan penyakit tuberkulosis dari satu orang yang sakit ke orang lain. Sehingga segala upaya yang bertujuan untuk mempercepat konversi sputum yaitu perubahan dari pemeriksaan BTA positif menjadi negatif menjadi sangat penting. Pardosi (2007) menyatakan penderita dengan BTA positif dalam sputumnya dapat menularkan kurang lebih kepada 10 sampai 15 orang bin dalam waktu satu tahun. Konversi sputum juga merupakan indikator yang sangat penting untuk menentukan kesembuhan penderita tuberkulosis. Selain pengobatan standar untuk tuberkulosis, vitamin D di perkirakan bisa mempercepat kesembuhan penderita tuberkulosis karena bentuk aktif vitamin D mampu meningkatkan produksi cathelicidin di dalam sel terutama sel makrofag yang peran yang sangit penting di respon imun terhadap infeksi tuberkulosis. Cathelisidin adalah suatu *Anti microbial peptide* yang terdapat di sel imun yang secara langsung dapat mematikan M.tuberculosis. Disamping efek anti mikrobial secara langsung cathelicidin juga punya aktivitas biologi lain, yang penting untuk respon imun, seperti : chemotaxis, menetralsisir toxin (LPS, endotoxin) yang penting untuk proses kesembuhan. Dari permasalahan diatas peneliti ingin

mengetahui apakah vitamin D bisa mempercepat kesembuhan penderita tuberkulosis yang mendapatkan pengobatan anti tuberkulosis standar dengan menggunakan parameter konversi sputum, perbaikan radiologis dan perubahan kadar TNF-alfa dalam serum. Bila hipotesis peneliti benar maka vitamin D bisa direkomendasikan untuk di sertakan dalam pengobatan tuberkulosis. Hal penting lain adalah peningkatan kadar vitamin D dalam serum tidak harus melalui obat2an, tetapi dapat juga melalui makanan yang mengandung vitamin D, juga diperlukan kecukupan terhadap keterpaparan pada sinar matahari. Pada masa mendatang di perlukan kajian kajian peran Vitamin D untuk kepentingan preventif terhadap penyakit tuberkulosis, mengingat sampai saat ini insiden dan prevelen tuberkulosis masih tinggi. Indonesia merupakan negara terbesar ketiga untuk banyaknya penderita tuberkulosis setelah China dan India. Akhirnya peneliti mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini, juga Lembaga Penelitian dan Penmas Universitas Brawijaya yang telah memfasilitasi kami, tak lupa ucapan terimakasih saya sampaikan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang selalu mendorong dan mem motivasi kami untuk melakukan penelitian. Kepada Direktur Rumah Sakit dr. Saiful Anwar Malang dan Ka SMF Ilmu Penyakit Paru juga saya ucapkan terimakasih se besar2nya karena telah mengijinkan kami untuk pengambilan data di Poli Penyakit Pam Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Pada teman teman perawat di poli Pak Kosim dan bu Naneng kami juga mengucapkan terimakasih karena atas bantuan beliau beliau hi kami dapat mengumpulkan sampel. Pada teman teman di Bio Medik fakultas kedokteran Universitas Brawijaya Pak Wib dan Mas Yudo terimakasih atas bantuannya dalam melaksanakan pengukuran kadar TNF-alfa

dan vitamin D di serum. Akhirnya peneliti berharap mudah2 an penelitian ini dapat member sumbangan yang besar untuk kesehatan pada umumnya dan kususny pada upaya pemberantasan penyakit tuberkulosis di Indonesia.

Malang, 2 Desember 2009

Peneliti



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN DAM SUMMARY	ii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
LATAR BELAKANG	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	12
3.1. TUJUAN PENELITIAN	12
3.2. MANFAAT (URGENSI ATAU KEUTAMAAN) PENELITIAN	12
BAB IV METODE PENELITIAN	13
4.1. DESAIN PENELITIAN	13
4.2. SUBYEK PENELITIAN	13
4.3. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI	13
4.4. JUMLAH SAMPEL	14
4.5. LOKASI PENELITIAN	14
4.6. WAKTU PENELITIAN	14
4.7. VARIABEL PENELITIAN	15
4.8. DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL	15
4.9. INSTRUMEN PENGUMPULAN DATA	16
4.10. ANALISA DATA	16
4.11. PROSEDUR PENELITIAN	17
BAB V HASIL PENELITIAN	18
5.1. KARAKTERISTIK PENDERITA	18
5.2. HASIL PEMERIKSAAN KADAR 25(OH)D DENGAN MENGGUNAKAN COLORIMETRIC READER (ELISA)	19
5.3. HASIL PEMERIKSAAN KADAR TNF- α DISERUM DENGAN COLORIMETRIC READER (ELISA)	20
5.4. HUBUNGAN PEMBERIAN VITAMIN D DENGAN KONVERSI SPUTUM SETELAH PENGOBATN OAT SELAMA SATU BULAN	20
5.5. HUBUNGAN PEMBERIAN VITAMIN D DENGAN KONVERSI SPUTUM	21
5.6. HUBUNGAN PEMBERIAN VITAMIN D DENGAN PERBAIKAN RADIOLOGIS SETELAH PENGobatan OAT SATU BULAN ..	21
5.7. HUBUNGAN PEMBERIAN VITAMIN D DENGAN PERBAIKAN RADIOLOGIS SETELAH PENGobatan OAT DUA BULAN...	23
BAB VI PEMBAHASAN	24
6.1. KARAKTERISTIK PENDERITA	24

6.2. EFEK PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP PENINGKATAN KADAR 25(OH)D	26
6.3. EFEK PEMBERIAN VITAMIN D TERHADAP PERUBAHAN KADAR TNF- α	27
6.4. PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D PADA KONVERSI SPUTUM DAN PERBAIKAN RADIOLOGIS SETELAH PENGOBATAN OAT	28
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	32
7.1. KESIMPULAN	32
7.2. SARAN	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	38



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Kerangka konsep yang menjelaskan pengaruh vitamin D (25-hydroxivitamin D) terhadap pembentukan cathelicidin dan kesembuhan penyakit tuberkulosis.	10
Gambar 2	Prosedur Penelitian	17
Gambar 3	Perubahan sputum BTA konversi sputum pada kedua kelompok tuberkulosis	21



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1.	Karakteristik sampel sebelum pelaksanaan percobaan.....	18
Tabel 5.2	Rerata kadar 25(OH)D sebelum dan sesudah pengobatan OAT selama dua bulan pada kelompok tanpa vitamin D dan kelompok dengan vitamin D	19
Tabel 5.3	Hubungan status pemberian vitamin D dengan rerata kadar 25(OH)D setelah pengobatan OAT selama dua bulan	19
Tabel 5.4	Rerata kadar TNF- α sebelum dan sesudah pengobatan OAT selama dua bulan pada kelompok tanpa vitamin D dan kelompok dengan vitamin D.....	20
Tabel 5.5	Hubungan status pemberian vitamin D dengan rerata kadar 25(OH)D setelah pengobatan OAT selama dua bulan...	20
Tabel 5.6	Hubungan pemberian vitamin D dengan konversi sputum setelah pengobatan OAT selama dua bulan.....	21
Tabel 5.7	Hubungan pemberian vitamin D dengan perbaikan radiologis setelah pengobatan OAT satu bulan.....	22
Tabel 5.8	Hubungan pemberian vitamin D dengan perbaikan radiologis setelah pengobatan OAT selama dua bulan	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pernyataan Persetujuan Untuk Berpartisipasi dalam Penelitian	35
Lampiran 2	Surat Pernyataan Persetujuan Mengikuti Penelitian	36
Lampiran 3	Uji Chi-Kuadrat Jenis Kelamin	37
Lampiran 4	Uji T-Bebas Umur	38
Lampiran 5	Uji T-Bebas Indeks Massa Tubuh sebelum pengobatan ..	39
Lampiran 6	Uji Chi-Kuadrat konversi sputum pada Bulan Pertama	40
Lampiran 7	Uji Chi-Kuadrat Konversi Sputum bulan kedua	41
Lampiran 8	Uji Chi-Kuadrat Perbaikan Gambaran Radiologis Bulan Pertama	42
Lampiran 9	Uji Chi-Kuadrat Perbaikan Gambaran Radiologis Bulan Kedua	43
Lampiran 10	Uji T-bebas Indeks Masa Tubuh pada Bulan Kedua	44
Lampiran 11	Uji T-Bebas pada Kadar 25(OH)D Pra Terapi	46
Lampiran 12	Uji T-Berpasangan Kadar 25(OH)D pada Kelompok Tanpa Vitamin D	47
Lampiran 13	Kurva Kalibrasi Kadar 25(OH)D	48
Lampiran 14	Dokumentasi	49

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang.

Tuberkulosis merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting di dunia, WHO melaporkan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi kuman tuberkulosis dan menurut regional WHO jumlah terbesar kasus tuberkulosis terjadi di Asia Tenggara yaitu 33% dari seluruh tuberkulosis dunia (PDPI, 2006). Penderita dengan BTA (Bakteri Tahan Asam) positif dalam sputumnya dapat menularkan sekurang-kurangnya kepada 10 sampai 15 orang lain setiap tahunnya (Pardosi, 2007). Situasi diatas menyebabkan terjadinya 8 sampai 12 juta penderita baru tuberkulosis dan 3 juta kematian pada tahun 2005 termasuk mereka yang terkena infeksi HIV (Pardosi, 2007).

Indonesia merupakan Negara ketiga di dunia dalam urutan jumlah penderita tuberkulosis setelah India (30%) dan Cina (15%) dengan persentase sebanyak 10% dari total penderita tuberkulosis di dunia (Pardosi, 2007). Kurun waktu 5 tahun terakhir dengan berbagai program pemberantasan tuberkulosis yang dilakukan hanya mampu menurunkan angka kesakitan penyakit tuberkulosis sebesar 15 per 100.000 penduduk sehingga dari 122 per 100.000 menjadi 107 per 100.000 penduduk. Dari laporan WHO tahun 2005 dinyatakan bahwa estimasi insiden tuberkulosis di Indonesia dengan dasar hasil pemeriksaan sputum adalah 326 per 100.000 pada tahun 2003 dengan perkiraan prevalens sebesar 295 per 100.000 (Anonymous, 2007).

Pada saat ini pengobatan penderita tuberkulosis diberikan dengan memberikan pengobatan kombinasi yang terdiri dari INH, rifampycin, ethambutol dan pyrazinamid dengan lama pengobatan 6 bulan. Meskipun waktu pengobatan sudah diperpendek menjadi 6 bulan tetapi pada kenyataannya angka putus berobat masih tinggi, data penelitian menunjukkan angka putus berobat di Rumah Sakit Saiful Anwar sebesar 66% (Siswanto, 2005). Ditambah adanya persoalan terjadinya MDR (*Multi Drug Resistent*) terhadap pengobatan yang ada saat ini. Data MDR di Asia Tenggara menunjukkan angka MDR pada penderita dengan BTA positif sebesar 2,2% dan sebesar 14,9% setelah mendapatkan pengobatan (WHO, 2007). Sehingga perlu dikembangkan terobosan pengobatan yang bisa meningkatkan kesembuhan dan mempercepat kesembuhan.

Salah satu pilihan yang perlu dipertimbangkan untuk memecahkan permasalahan diatas adalah pemberian Vitamin D sebagai pengobatan suportif yang menyertai pengobatan standar jangka pendek yang ada pada saat ini. Vitamin D berfungsi sebagai imunomodulator, dimana vitamin D terlibat pada aktivasi makrofag. Penelitian invitro yang dilakukan oleh Liu tahun 2006 menunjukkan metabolit aktif vitamin D yaitu 1,25-dihydroxyvitamin D bisa membantu makrofag menekan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* melalui peningkatan kadar cathelicidin intraseluler (Liu,2006). Cathelicidin adalah anti mikrobial protein yang sangat poten yang bisa membunuh kuman gram negatif dan positif. Cathelicidin terdapat dalam tubuh manusia dalam bentuk Human LL-37 Peptida atau h-CAP18 yang berperan di imunitas inate (Tomasinsig,2005).

Selain di imunitas inate metabolit aktif vitamin D juga punya peran yang penting di imunitas adaptif sebagai immunosupresor. Peran vitamin D di imunitas adaptif adalah menekan INF- γ , TNF- α sebagai interlekin inflamasi dan menaikkan IL4 sebagai interlekin anti inflamasi (Rigby, 1987 ; Adam, 2007)

Peran metabolit aktif vitamin D di imunitas adaptif sangat diperlukan untuk menekan reaksi inflamasi berlebihan sehingga dapat meningkatkan dan mempercepat kesembuhan penderita tuberkulosis.

Berpinjak dari masalah diatas peneliti ingin melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh Vitamin D sebagai pengobatan suportif terhadap percepatan konversi sputum, perbaikan radiologis dan perubahan interlekin IFN- γ dan TNF- α penderita tuberkulosis paru pada satu bulan dan dua bulan setelah mendapat pengobatan tuberkulosis standar.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

Vitamin D sebagai imunomodulator

Saat ini sudah diketahui bahwa vitamin D mempunyai peran penting pada sistem imun manusia, baik *innate immunity* maupun *adaptive immunity* (Adams, 2006). Konsep mengapa vitamin D bisa disebut sebagai *imunomodulator* karena alasan sebagai berikut (Adams, 2007): 1. Bila diaktivasi oleh mitogen atau antigen spesifik, maka limfosit dan makrofag / monosit akan mengekspresikan gene vitamin D receptor (VDR) 2. Bila dirangsang dengan LPS atau interferon- γ makrofag/monosit memiliki kemampuan untuk mensintesa dan melepaskan metabolit vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D) ke dalam *pericellular space*, dan metabolit ini merupakan ligan yang mengaktivasi VDR.

Mekanisme genomik : Vitamin D mempunyai sifat lipofilik sehingga dengan mudah bisa menembus membran sel dan bisa masuk ke inti sel (Dusso, 2005). Di target sel vitamin D melalui ligannya akan berikatan dengan reseptor vitamin D3 (VDR) (Haussler, 1998). Saat berikatan dengan ligan (vit D), VDR mengalami perubahan konformasional, dilanjutkan penggabungan (*heterodimerisation*) dengan retinoid X receptor (RXR) dan membentuk RXR-VDR-Ligand complex. Selanjutnya RXR-VDR-Ligand complex berikatan dengan vitamin D3 responsive elements (VDRE) yang terletak di promoter region dari target genes. Interaksi antara RXR-VDR-Ligand complex dengan VDRE merangsang proses transkripsi, selanjutnya akan diikuti proses translasi di sitoplasma dan diikuti proses pembentukan protein (finished protein).

Peran 1,25- Dihydroxyvitamin D terhadap penyakit infeksi

Peran vit D sebagai antimikrobal terhadap *M.tuberculosis* pada monosit dan makrofag di manusia telah diteliti secara *invitro* dan hasilnya menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D bisa menekan pertumbuhan *M.tuberculosis* (Liu, 2006). Mekanisme penekanan pertumbuhan *M.tuberculosis* melalui terbentuknya suatu peptida yang disebut *human cathelicidin antimicrobial peptide* (CAMP) yang mempunyai kemampuan mematikan kuman secara langsung (Wang, 2004 ;Liu, 2006).

Adam(2007) menyatakan bahwa interaksi antara *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) yang merupakan produk dari dinding sel *M.tuberculosis* dengan Toll-Like Receptor 2/1 dimer pair di makrofag memicu

peningkatan ekspresi CYP27b1 di mitochondria dan VDR. Dengan adanya kadar 25-hydroxyvitamin D yang cukup dalam serum, akan berikatan dengan protein dan membentuk serum vitamin D binding protein yang kemudian masuk dalam sel melalui mekanisme endocytosis. Di dalam sel 25-hydroxyvitamin D dirubah menjadi 1,25-dihydroxyvitamin D yang merupakan bentuk aktif vitamin D oleh 1- α -hydroxylase (CYP27b1). Bentuk aktif vitamin D ini kemudian masuk ke inti dan berikatan dengan VDR. Setelah berikatan dengan vitamin D, VDR mengalami perubahan konformasional dan berikatan dengan RXR membentuk RXR-VDR – ligand complex selanjutnya akan mengaktifasi endogenous defensin gene, terjadi proses transkripsi. Proses transkripsi dilanjutkan ke proses translasi dengan menghasilkan cathelicidin atau CAMP, yang berfungsi mematikan secara langsung *M.tuberculosis* dalam sel.

Liu (2006) dalam penelitiannya secara invitro pada monosit dan makrofag manusia menemukan bahwa efek antimikrobal dari 1,25-dihydroxyvitamin D sangat dipengaruhi oleh TLR 2/1, dan hal diatas tidak terjadi pada sel dendritik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa TLR 2/1 yang berikatan dengan ligannya dapat meningkatkan regulasi (*upregulation*) terhadap VDR dan CYP27b1. TLR 2/1 juga dapat meningkatkan ekspresi dari CAMP didalam medium yang ada 1,25 dihydroxyvitamin D. Kultur monosit dilakukan pada serum orang Afrika Amerika dan Caucasian, dan pada masing2 kultur diaktivasi dengan TLR2/1. Dari masing2 kultur ditentukan kadar cathelicidin mRNA dengan metode q PCR (*Quantitative PCR*). Hasil menunjukkan bahwa kadar cathelicidin mRNA dari orang Caucasian lebih tinggi dari orang Afrika Amerika. Keadaan diatas bisa diterangkan karena kadar vitamin D orang Afrika Amerika lebih rendah dari orang Caucasian. Hal ini bisa dijelaskan bahwa orang Afrika Amerika berkulit hitam dan mempunyai kadar melanin yang tinggi di kulitnya dan hal ini akan mempengaruhi pembentukan vitamin D melalui UVB didalam tubuhnya.

Penelitian selanjutnya dilakukan untuk menguatkan peran 1,25 dihydroxyvitamin D terhadap peningkatan cathelicidin mRNA. Kultur monosit dilakukan dari serum orang Afrika Amerika kemudian ditambahkan vitamin D. Setelah itu di stimulasi dengan TLR2/1L dan diukur kadar cathelicidin mRNA. Hasil menunjukkan bahwa kadar cathelicidin mRNA yang paling tinggi adalah pada kultur monosit yang mendapatkan vitamin D dan di aktivasi dengan TLR2/1L. Kesimpulan dari penelitian diatas adalah untuk meningkatkan cathelicidin mRNA sangat diperlukan peran vitamin D dan TLR2/1.

Mekanisme lain menunjukkan bahwa peran 1,25-dihydroxyvitamin D di dalam menekan pertumbuhan ataupun mematikan *M.tuberculosis* melalui peningkatan produksi nitric oxide di dalam sel. Rockett (1998) dengan menggunakan *Human Macrophage-Like Cell Line* melakukan penelitian untuk mengetahui efek 1,25-dihydroxyvitamin D terhadap peningkatan produksi NO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vitamin D menyebabkan induksi ekspresi nitric oxide synthase (iNOS2) dan menyebabkan penekanan pertumbuhan *M.tuberculosis*. Dari hasil penelitian diatas diambil kesimpulan bahwa peran 1,25-dihydroxyvitamin D didalam kontrol terhadap tuberkulosis pada makrofag manusia melalui NO-dependent mechanism. Seperti kita ketahui bahwa pembentukan NO dan related RNI melalui iNOS2 dengan menggunakan L-arginin sebagai substrat.

Peran 1,25-dihydroxyvitamin D pada sel T dan APC (Antigen Presenting Cell)

Setelah ditemukan ekspresi VDR di sel T yang teraktivasi penelitian tentang efek vit D pada sel T banyak dikerjakan (Griffin, 2003). 1,25-dihydroxyvitamin D tidak hanya mengatur keseimbangan metabolisme kalsium dan fosfor, tetapi juga punya peran yang penting dalam pengaturan sistem imun (Mathieu, 2002). Ekspresi VDR terjadi di sel sistem imun termasuk CD4 dan CD8 sel T dan antigen-presenting cells (Provvedini, 1983). Ekspresi VDR juga dilaporkan ada di limfosit B meskipun masih diperdebatkan (Veldman, 2000). Percobaan invitro mengenai efek 1,25 dihydroxyvitamin D pada produksi sitokin yang dilaksanakan pada APC dan sel T menunjukkan pemberian vitamin D menghambat proliferasi dan diferensiasi Th1 dan produksi sitokinnya, serta merangsang diferensiasi Th2 (Marcinkowska, 2001). Penelitian invivo oleh Xiao-ping (2008) yang dilaksanakan pada tikus (*Lewis rats*) untuk melihat pengaruh pemberian 1,25-dihydroxyvitamin D terhadap perubahan kadar sitokin IFN- γ , IL-12 dan IL-4. Hasil menunjukkan bahwa kadar IFN- γ dan IL-12 dalam serum tikus yang diberi 1,25-dihydroxyvitamin D lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, sedang kadar IL 4 lebih tinggi dari kontrol.

Penelitian lain yang dilaksanakan oleh Adorini (2002) menyatakan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D tidak mempengaruhi produksi IL-4. Pengaruh 1,25-dihydroxyvitamin terhadap IL-2 ditunjukkan oleh penelitian yang dilaksanakan oleh Takeuchi (1998). Hasil menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D dapat

menekan produksi IL-2 yang selanjutnya akan diikuti oleh penghambatan terhadap proliferasi dan aktivasi populasi sel T. Xiao-Ping (2008) dalam penelitiannya juga membuktikan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D dapat menurunkan regulasi gene IL-2 pada limpa tikus (*rat spleen*)

Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D mempunyai efek dalam peningkatan respon Th2 dan menurunkan respon Th1. Hasil penelitian yang lain dari Xiao-Ping (2008) juga menunjukkan 1,25-dihydroxyvitamin D tidak hanya berpengaruh terhadap produksi sitokin saja tetapi juga terhadap tingkat kematian hewan coba. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hewan coba yang mendapatkan 1,25-dihydroxyvitamin D setelah di injeksi dengan LPS tingkat kematiannya sebesar 0% dibanding dengan tingkat kematian pada hewan coba yang tidak mendapatkan 1,25-dihydroxyvitamin D dengan tingkat kematian sebesar 50%. Kejadian diatas menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D mempunyai peran yang besar untuk menghambat reaksi inflamasi akut.

Selain sel T, APC juga merupakan target sel yang penting dari 1,25-dihydroxyvitamin D, sebab di APC juga terdapat ekspresi VDR. Diantara APC maka sel dendritik punya peran yang penting dalam meningkatkan respon dari sel T. Peningkatan respon sel T memerlukan aktivasi dari sel T reseptor dan costimulatory yang merupakan interaksi antara dendritik sel dan sel T. Pada keadaan dimana terjadi hilangnya fungsi dari costimulatory maka sel T menjadi anergi. Dua costimulatory yang punya peran penting didalam aktivasi sel T adalah CD 28 di sel T dan CD 80 dan CD 86 di sel dendritik. 1,25-dihydroxyvitamin D juga punya peran menghambat presentasi antigen oleh APC dan menghambat stimulasi terhadap sel T. Dalam percobaan invitro 1,25-dihydroxyvitamin D menyebabkan hambatan terhadap diferensiasi, maturasi dan penurunan regulasi pada ekspresi MHC class II dan co – stimulatory molekul seperti CD40, CD80 dan CD86 pada sel dendritik, yang akan menyebabkan dihambatnya produksi sitokin inflamasi. Hal diatas yang dipergunakan untuk menjelaskan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D punya efek atau aktivitas immunosupresif (Pena, 2000). Hasil diatas menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D menghambat kemampuan APC dalam merangsang aktivasi sel T bukan langsung mempengaruhi penghambatan pada sel T. Terhambatnya maturasi pada sel dendritik juga bisa menyebabkan penghambatan terhadap IL-12_{p75} dan meningkatkan sekresi IL-10 (Pena, 2000). Penjelasan Lain yang

menerangkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D bisa menekan produksi IL-12 adalah melalui kemampuan dari 1,25-dihydroxyvitamin D untuk menurunkan regulasi terhadap aktivasi NF- κ B (Hakim, 2003). Penelitian lain yang dilakukan oleh Xiao-Ping (2008) 1,25-dihydroxyvitamin D juga bisa menekan produksi IL-12 dan penekanan produksi sitokin ini melalui mekanisme down regulasi NF- κ B.

Selain berpengaruh pada produksi IL-12, vitamin D juga berpengaruh terhadap produksi TNF- α . Pengaruh vitamin D pada sitokin ini sangat dipengaruhi oleh maturasi atau diferensiasi dari APC. Pada sel yang imatur seperti sel yang ada di sumsum tulang (bone marrow), 1,25-dihydroxyvitamin D menyebabkan peningkatan produksi TNF- α (Hakim, 2003). Sedangkan pada sel matur seperti peripheral blood mononuclear cells dan monosit yang terstimulasi oleh LPS, 1,25-dihydroxyvitamin D menyebabkan penurunan produksi TNF- α (Giovannini, 2001).

Hasil berbagai penelitian diatas menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D secara konsisten berperan sebagai inhibitor terhadap sitokin Th1, sehingga berdampak penurunan produksi sitokin inflamasi seperti IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α dan meningkatkan IL-4, IL-10.

Peran 1,25-dihydroxyvitamin D terhadap tuberkulosis.

Banyak bukti pada percobaan *in vitro* yang menunjukkan bahwa vitamin D bisa menekan pertumbuhan *M.tuberculosis* baik melalui terbentuknya cathelicidin maupun nitric oxide (NO). Penelitian yang dilaksanakan oleh Rockett (1998) pada Human Macrophage-Like Cell Line menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxyvitamin D bisa meningkatkan pembentukan NO dan menekan pertumbuhan *M.tuberculosis*. Dan peningkatan NO ini sangat diperlukan dalam mematikan *M.tuberculosis* melalui mekanisme fusi fagosom-lisosom. Mekanisme peran NO dalam mematikan atau menekan pertumbuhan *M.tuberculosis* sangat jelas pada mencit yaitu melalui jalur NO-dependent pathway, sedang pada manusia masih tidak jelas. Kontroversi yang besar adalah apakah makrofag pada manusia mampu mensintesa NO yang cukup sebagai respon terhadap infeksi. Dengan hasil penelitian diatas dimana 1,25 dihydroxyvitamin D bisa meningkatkan produksi NO pada Human Macrophage-Like Cell Line mungkin bisa menurunkan kontroversi. Mekanisme lain yang menjelaskan peran 1,25 – dihydroxyvitamin D dalam kemampuannya menekan *M.tuberculosis* melalui terbentuknya cathelicidin. Penelitian yang dilakukan oleh Liu (2006, 2007)

menyatakan bahwa aktivitas vitamin D dalam menekan pertumbuhan *M.tuberculosis* tergantung terhadap terbentuknya cathelicidin. Hasil penelitian secara invitro selanjutnya menunjukkan bahwa terbentuknya cathelicidin hanya terjadi pada konsentrasi vitamin D yang cukup. Makin tinggi kadar vitamin D makin tinggi cathelicidin, dan makin tinggi kadar cathelicidin makin menurun kemampuan hidup dari bakteri (bacterial viability). Dua mekanisme diatas terjadi pada Innate immunity.

Selain pengaruhnya dalam pembentukan cathelicidin dan NO, 1,25-dihydroxyvitamin D juga punya pengaruh dalam produksi sitokin. Studi invitro menunjukkan bahwa ekspresi VDR terjadi pada sel imun baik pada Antigen Presenting Cells seperti makrofag dan sel dendritik maupun limfosit T termasuk CD4⁺ dan CD8⁺ (Marcinkowska, 2001). Ekspresi VDR juga pernah dilaporkan di sel B, walaupun masih tidak jelas. Aktivitas 1,25-dihydroxyvitamin D dalam pengaruhnya pada sistem imun melalui VDR.

Karena adanya ekspresi VDR di APC maupun di sel limfosit T maka sel ini menjadi target sel dari aktivitas 1,25-dihydroxyvitamin D. Dari hasil2 penelitian yang sudah dijelaskan diatas menunjukkan bahwa 1,25-dihydroxy vitamin D punya peran didalam meningkatkan sitokin anti inflamasi (IL-4) dan menurunkan sitokin inflamasi (IL-12, IFN- γ dan TNF- α).

Sehingga diambil kesimpulan , 1,25-dihydroxyvitamin D berfungsi menghambat diferensiasi ke Th1. Mekanisme diatas bisa melalui penghambatan terhadap aktivitas APC maupun langsung ke sel T.

Bagaimana pengaruhnya pada kesembuhan penyakit tuberkulosis sangat menarik untuk di bahas. Telah diketahui bahwa penyakit tuberkulosis adalah penyakit yang didalam kesembuhannya memerlukan respon Th1 dengan sitokin sitokin inflamasi seperti IFN- γ , TNF- α dan IL12. Hasil penelitian menunjukkan hilangnya sitokin diatas menyebabkan bertambah parahnya penyakit maupun lebih pekanya terhadap ineksi tuberkulosis.

Hasil hasil penelitian tentang peran IFN- γ terhadap tuberklosis. Penelitian oleh Raja (2004) menyatakan IFN- γ punya peran penting dalam meningkatkan antigen presentasi yang akan diikuti dengan rekrutmen CD4 T-lymphocytes dan cytotoxic T-lymphocytes yang selanjutnya punya peran mematikan *M.tuberculosis*. Studi lain dilakukan pada penderita tuberkulosis yang mengalami Multi Drug Resistance , diberi IFN- γ hasilnya menunjukkan beberapa perbaikan

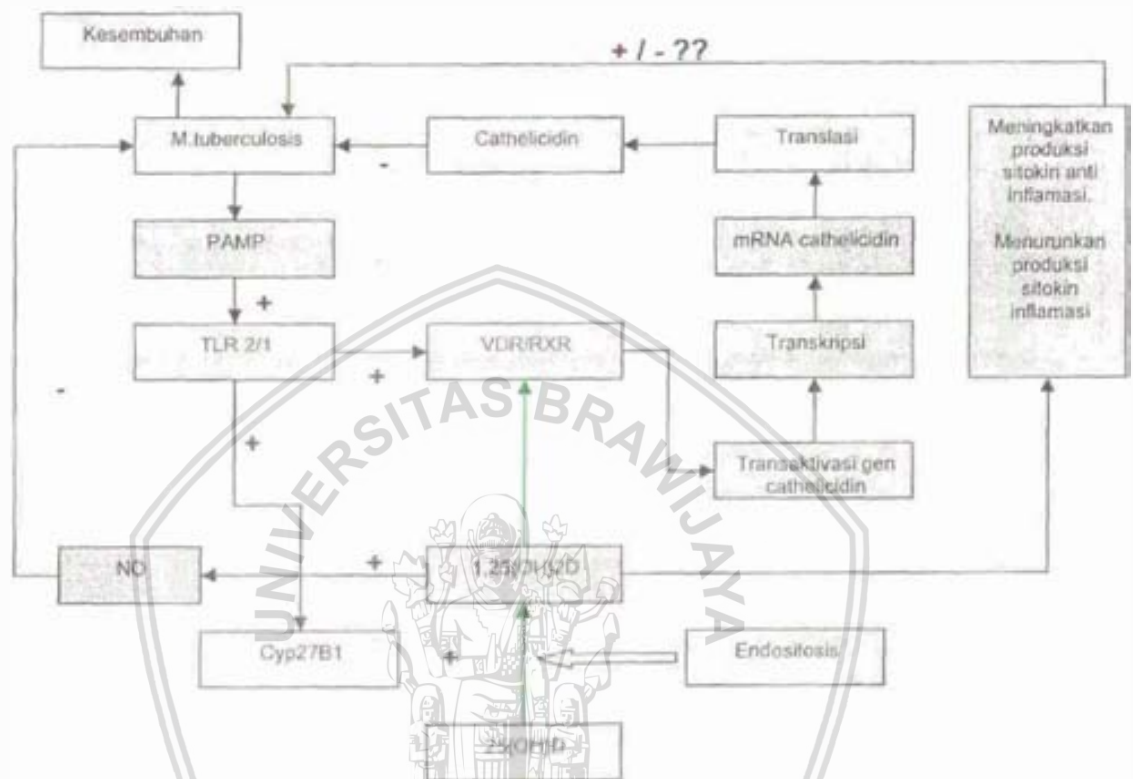
parameter seperti : peningkatan konversi sputum, peningkatan berat badan dan perbaikan lesi kavitas (Schluger, 1998).

Hasil hasil penelitian peran TNF- α terhadap tuberkulosis. TNF- α suatu sitokin inflamasi yang penting untuk pembentukan granuloma dan meningkatkan aktivasi makrofag (Kindler, 1989). Karena kemampuannya membentuk granuloma maka TNF- α punya peran yang penting dalam membatasi infeksi dan mencegah penyebaran penyakit (Raja, 2004). Penelitian lain menunjukkan penderita yang mendapatkan pengobatan yang mengandung TNF- α antagonis (Infliximab^R, Etanercept^R) menyebabkan reaktivasi dari penyakit TB paru (Wallis, 2004). Percobaan dilaksanakan pada mencit dengan memberikan anti-TNF antibodies hasil menunjukkan mencit tidak mampu atau gagal membentuk granuloma dan berakibat kematian mencit. Kematian mencit disebabkan terjadi penyebaran infeksi (Schluger, 1998). Walaupun TNF- α punya peran yang menguntungkan untuk kesembuhan tuberkulosis, tetapi ada efek dari TNF- α yang merugikan seperti demam dan lelah (Crevel, 2002). TNF- α juga mempunyai efek respons imun patologik yang menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan paru (Moreira, 1997).

Hasil hasil penelitian peran interleukin-12 terhadap tuberkulosis. Peran penting dari IL-12 adalah mempunyai kemampuan untuk meningkatkan produksi IFN- γ (Lin, 1996). Studi dilakukan pada mencit dengan defisiensi IL-12,40 hasil menunjukkan ada peningkatan jumlah *M.tuberculosis* hal ini menyebabkan meningkatnya kepekaan terhadap infeksi tuberkulosis (Ottenhof, 1998). Kejadian diatas diperkirakan sebagai akibat penurunan produksi IFN- γ . Studi lain menunjukkan kerusakan yang terjadi pada reseptor IL-12 di jumpai pada penderita tuberkulosis abdominal (Altare, 2001).

Bagaimana pengaruh vitamin D terhadap tuberkulosis ? Masalah ini menarik untuk dibahas. Dari sisi kemampuan 1,25-dihydroxyvitamin D memproduksi cathelicidin dan NO sangat menguntungkan untuk meningkatkan kesembuhan penderita tuberkulosis. Sebaliknya dari efek 1,25-dihydroxyvitamin D terhadap produksi sitokin, secara teoritikal sangat merugikan terhadap kesembuhan penderita tuberkulosis. Suatu hal yang tidak boleh dikesampingkan bahwa reaksi inflamasi yang berlebihan juga bisa merugikan terhadap kesembuhan. Meskipun belum ada penjelasan bagaimana efek penekanan terhadap sitokin inflamasi yang disebabkan oleh 1,25-dihydroxyvitamin D terhadap penyakit tuberkulosis, kita harapkan bahwa efek 1,25-dihydroxyvitamin

Kerangka konsep dan hipotesis penelitian



Interaksi antara PAMP yang merupakan produk dari *M.tuberculosis* dengan TLR 2/1 memicu peningkatan ekspresi Cyp27B1 dan VDR, bersamaan dengan itu 25-hydroxyvitamin D masuk ke sel dengan pengaruh enzim Cyp27B1 dirubah menjadi bentuk aktif vitamin D yang disebut 1,25-dihydroxyvitamin D. 1,25-dihydroxyvitamin D berikatan dengan VDR dan RXR membentuk RXR-VDR-Ligand Complex. RXR-VDR-Ligand Complex berikatan dengan Vitamin D Responsive Element yang di promoter region di target gene dan selanjutnya diikuti proses transkripsi, tranlasi dan terbentuk cathelicidin yang merupakan peptida yang bersifat antimikrobal terhadap *M.tuberculosis*. Mekanisme lain untuk mematikan *M.tuberculosis* melalui terbentuknya NO melalui jalur NO-Dependent Mechanism. Kedua mekanisme diatas akan mempengaruhi kesembuhan. Vitamin D juga menekan terbentuknya sitokin inflamasi seperti IFN- γ dan TNF- α yang bisa menekan efek inflamasi yang berlebihan yang pada akhirnya dapat mempercepat kesembuhan.

Hipotesis penelitian.

1. Penderita tuberkulosis paru dengan pengobatan suportif vitamin D dan pengobatan tuberkulosis standar menunjukkan konversi sputum dan perbaikan radiologis lebih baik dibandingkan dengan penderita tuberkulosis paru dengan pengobatan standar.
2. Penderita tuberkulosis paru dengan pengobatan suportif vitamin D dan pengobatan tuberkulosis standar memiliki kadar IFN- γ dan TNF- α lebih rendah dari penderita tuberkulosis paru yang mendapatkan pengobatan standar.



BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan penelitian

1. Mengetahui pengaruh pengobatan suportif vitamin D terhadap konversi sputum dan perbaikan radiologis pada penderita tuberkulosis paru yang mendapatkan pengobatan standar.
2. Mengetahui pengaruh pengobatan suportif vitamin D terhadap perubahan kadar IFN- γ dan TNF- α pada penderita tuberkulosis paru yang mendapatkan pengobatan standar.

3.2. Manfaat (Urgensi atau Keutamaan) penelitian.

Bila hipotesis terbukti benar, diharapkan pemberian vitamin D bisa dipakai untuk meningkatkan maupun mempercepat kesembuhan penderita tuberkulosis paru yang mendapatkan pengobatan anti tuberkulosis standar. Mengingat bahwa Multi Drug Resistens di Asia tenggara, terutama di Indonesia cukup tinggi. Hal lain yang perlu diperhatikan adalah pemberian vitamin D peroral cukup mudah dan dibantu dengan vitamin D yang berasal dari makanan atau minuman seperti ikan laut, telur, susu, minyak ikan dan buah – buahan tertentu

BAB IV. METODE PENELITIAN.

4.1. Desain penelitian

Desain penelitian yang akan dilaksanakan adalah Double-Blind Randomized controlled Trial. Penderita tuberkulosis paru yang mendapatkan pengobatan tuberkulosis standar yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dilakukan acak (random) dan akan terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok 1 akan diberi vitamin D dan kelompok 2 tidak diberi vitamin D. Masing masing kelompok diikuti sampai dua bulan untuk dilihat perbedaan konversi sputum, perbaikan foto thorax, kadar IFN- γ dan TNF- α pada bulan pertama dan bulan kedua setelah pengobatan standar.

4.2. Subyek Penelitian

Subyek penelitian adalah semua penderita tuberkulosis yang datang di ruang rawat jalan dan ruang rawat inap di Rumah Sakit umum dr. Saiful Anwar Malang yang memenuhi kriteria inklusi

4.3. Kriteria inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi :

- Semua penderita tuberkulosis berumur 15 sampai 50 tahun
- Penderita TB dengan BTA positif, kategori I
- Indeks Massa Tubuh = 15 – 25 Kg/m²

Kriteria eksklusi :

- Penderita dengan status defisiensi kekebalan : HIV, diabetes mellitus, tranplantasi organ, keganasan, pengobatan dengan steroid.
- Hamil dan menyusui
- Penderita TB extraparu
- Gangguan fungsi liver
- Gangguan fungsi ginjal
- Penderita alergi vitamin D

4.4. Jumlah sampel

Besar sampel ditetapkan berdasarkan rumus : (Madiyono, 1995)

$$n_1 = n_2 = \frac{(z_\alpha \sqrt{2PQ} + z_\beta \sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2})^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

dimana diperlukan informasi :

1. P_2 adalah perkiraan proporsi efek pada kontrol, yaitu besarnya presentasi konversi sputum penderita tuberkulosis paru yang tidak mendapat vitamin sama dengan 0,75 (Dari pustaka)
2. Perbedaan konversi sputum yang dianggap bermakna secara klinis (clinical judgement) sebesar 0,24.
3. $P_1 = P_2 + 0,24 = 0,99$.
4. Tingkat kemaknaan , α (ditetapkan peneliti) yaitu 0,05 berarti besarnya $Z_\alpha = 1,960$
5. Power penelitian 70% (ditetapkan peneliti) besar $Z_\beta = 0,53$.
6. $P = \frac{1}{2} (P_1 + P_2) = 0,87$.

Dari hasil perhitungan rumus besar sampel diatas didapatkan besar sample minimal 21 untuk masing – masing kelompok. Total subyek penelitian 42

4.5. Lokasi penelitian

Lokasi penelitian di ruang rawat jalan dan rawat inap Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang Jawa Timur.

4.6. Waktu penelitian

1. Pengumpulan data : untuk mendapatkan jumlah penderita tuberkulosis paru dengan BTA positif dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diperkirakan butuh waktu 6 bulan dan diikuti selama dua bulan jadi total waktu pengumpulan data 8 bulan.
2. Pengolahan dan analisa data 1 bulan.
3. Penyusunan laporan dan seminar 1 bulan.
4. Total waktu yang diperlukan 10 bulan.

4.7. Variabel penelitian

1. Variabel Bebas (*Independent variable*) Sebagai variabel bebas adalah pengobatan suportif vitamin D
2. Variabel Tergantung (*Dependent variable*) Sebagai variabel tergantung adalah konversi sputum, perbaikan radiologis dan kadar IFN- γ dan TNF- α

4.8. Definisi operasional variabel.

1. Defisiensi vitamin D : konsentrasi vitamin D dengan pengukuran Colorimetrik reader (Elisa) ditemukan kadarnya kurang dari 30 ng/ml (Holick, 2007).
2. Penderita tuberkulosis paru : penderita dengan infeksi paru kronis, gambaran radiologis spesifik tuberkulosis paru, dan dengan ditemukan sputum Basil Tahan Asam minimal 1 – 9 BTA pada 100 lapang pandang.
3. BTA positif: Ditemukan Basil Tahan Asam pada sputum Sewaktu Pagi Sewaktu (SPS) dengan menggunakan pewarnaan Ziehl – Nielsen dan dibaca dengan interpretasi skala *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease* (rekomenasi WHO) (PDPI, 2006).
4. Radiologis: Hasil pemeriksaan foto dada yang dibaca oleh dokter spesialis paru atau spesialis radiologi dengan kriteria *Far advanced lesion*, *moderate advanced lesion*, dan *minimal lesion*.
5. Konversi sputum: Bila dalam waktu dua bulan pengobatan tuberkulosis, terdapat perubahan Basil Tahan Asam sputum menjadi negatif.
6. Perubahan jumlah BTA : perubahan jumlah BTA dalam sputum setelah terapi 1 bln dg memakai kriteria WHO (IUATLD)
7. Perbaikan Radiologis: Terdapat berkurangnya infiltrat pada foto dada dengan dibaca oleh dokter spesialis paru atau dokter spesialis radiologi.
8. Pengobatan tuberkulosis standar : terapi standar pemberian obat anti tuberkulosis selama dua bulan pertama dengan regimen INH, Rifampisin, Pirazinamid, dan Etambutol serta empat bulan berikutnya dengan INH dan rifampisin (PDPI, 2006) dan menurut strategi DOTS.
9. Pengobatan suportif vitamin D: terapi suplemen vitamin D3 (cholecalciferol) 800 iu per hari selama dua bulan.
10. Kadar 25(OH)D : Kadar vitamin D 25(OH)D dalam serum penderita yang diukur sebelum terapi tuberkulosis dimulai.

11. Kadar 25(OH)D II : Kadar vitamin D 25(OH)D dalam serum penderita yang diukur setelah terapi tuberkulosis 2 bulan.

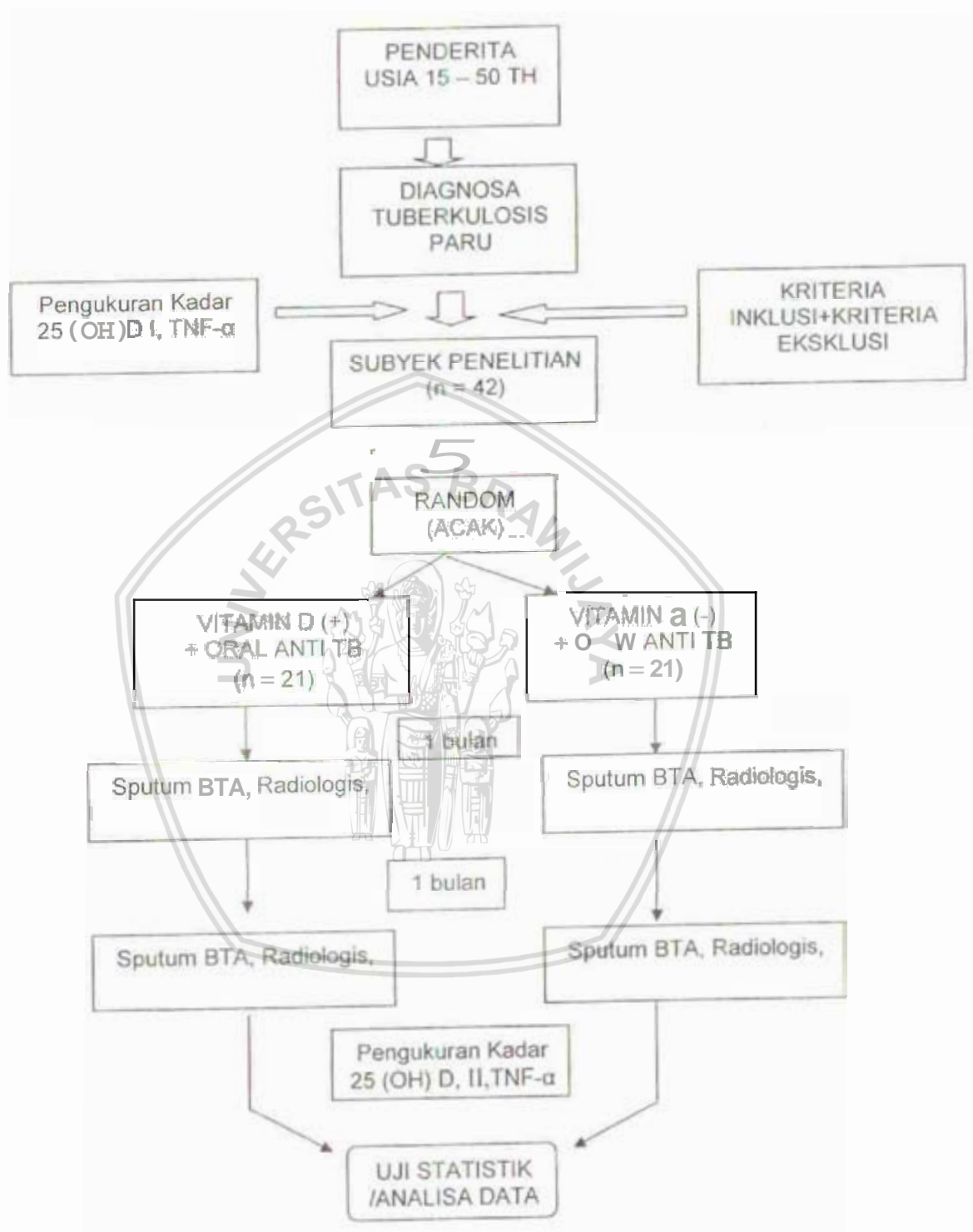
4.9. Instrumen pengumpulan data

1. Penderita Tuberkulosis paru BTA positif dengan menggunakan pengecatan Ziehl Nielsen
2. Sampel darah
3. Kit pemeriksaan Vitamin D dan dilakukan pemeriksaan dengan Colorimetrik Reader (ELISA)
4. Kit pemeriksaan untuk IFN- γ dan TNF- α dengan ELISA
4. Alat tulis untuk pencatatan
5. Alat X-Ray untuk mengambil gambar foto dada

4. 10. Analisa data

Analisa data untuk mengetahui hubungan antara pemberian Vit D terhadap konversi sputum dan perbaikan radiologis digunakan uji statistik Chi-Square. Uji statistik untuk mengetahui perbedaan penurunan kadar IFN- γ dan TNF- α digunakan uji statistik Independent t-test, sedang untuk mengetahui perubahan interlekin pada masing2 kelompok saat sebelum di beri pengobatan dan setelah pengobatan digunakan uji statistik paired t-test. Dengan menggunakan batas kemaknaan 0,05

4.11. Prosedur penelitian



BAB V. HASIL PENELITIAN

5.1. Karakteristik penderita

Tabel 5.1. Karakteristik sampel sebelum pelaksanaan percobaan

Karakteristik sampel	Tanpa pemberian	Dengan pemberian	P value
	Vitamin D	Vitamin D	
Jenis kelamin			
* laki – laki	14(67%)	10(48%)	0,29
* perempuan	8(33%)	11(52%)	
Total	22(100%)	21(100%)	
Hasil foto Thorax			
* normal	0(0%)	1(5%)	0,16
* minimal	2(9%)	2(9%)	
* moderat	3(14%)	8(38%)	
* far advance	17(77%)	10(48%)	
Total	22(100%)	21(100%)	
Indeks masa tubuh	18,20 ± 2,57	17,98 ± 2,73	0,78
Umur	33,27 ± 9,15	28,61 ± 7,52	0,09
Rerata Kadar 25(OH)D	18,41 ± 9,53	19,52 ± 8,99	0,62
Rerata Kadar TNF-α	15,22 ± 14,70	12,07 ± 11,55	0,44

Tabel 5.1. menggambarkan karakteristik kelompok penderita tuberkulosis paru di instalasi rawat jalan Rumah Sakit Umum dr. Saiful Anwar Malang. Pada penelitian ini terdapat dua kelompok penderita tuberkulosis paru yang pertama tanpa pemberian vitamin D dan yang kedua dengan pemberian vitamin D.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok pada jenis kelamin, foto toraks, Indeks

Masa Tubuh, umur, dan rerata kadar 25(OH)D dengan p value berturut-turut 0,29; 0,16; 0,78; 0,09; 0,62.

5.2. Hasil pemeriksaan kadar 25(OH)D dengan menggunakan Colorimetric Reader (ELISA)

Tabel 5.2. Rerata kadar 25(OH)D sebelum dan sesudah pengobatan OAT selama dua bulan pada kelompok tanpa vitamin D dan kelompok dengan vitamin D.

Status pemberian Vitamin D	Rerata 25(OH)D I (ng/ml)	Rerata 25(OH)D II (ng/ml)	p value
Tanpa Vitamin D	18,11 ± 9,53	21,61 ± 9,13	0,03
Dengan Vitamin D	19,52 ± 8,99	34,20 ± 11,11	0,00

Rerata kadar 25(OH)D sebelum dan sesudah pengobatan OAT selama dua bulan kelompok tanpa vitamin D berurutan 18,11 ± 9,53(ng/ml); 21,61 ± 9,13(ng/ml), dengan p value 0,03. Rerata kadar 25(OH)D sebelum dan sesudah pengobatan OAT selama dua bulan kelompok dengan vitamin D berurutan 19,52 ± 8,99(ng/ml); 34,20 ± 11,11(ng/ml), dengan p value 0,00.

Tabel 5.3. Hubungan status pemberian vitamin D dengan rerata kadar 25(OH)D setelah pengobatan OAT selama dua bulan

Status pemberian Vitamin D	Rerata 25(OH)D (ng/ml)	p value
Tanpa Vitamin D	21,61 ± 9,13	0,00
Dengan Vitamin D	34,20 ± 11,11	

Rerata kadar 25(OH)D setelah pengobatan OAT dua bulan pada kelompok dengan vitamin D sebesar 34,20 ± 11,11(ng/ml) lebih tinggi

dibandingkan dengan kelompok tanpa vitamin D sebesar $21,61 \pm 9,13$ (ng/ml) dengan p value 0,00.

5.3. Hasil pemeriksaan kadar TNF- α diserum dengan *Colorimetric Reader* (ELISA)

Tabel 5.4. Rerata kadar TNF- α sebelum dan sesudah pengobatan OAT selama dua bulan pada kelompok tanpa vitamin D dan kelompok dengan vitamin D.

Status pemberian Vitamin D	Rerata TNF- α sebelum percobaan (pg/ml)	Rerata TNF- α sesudah percobaan (pg/ml)	p value
Tanpa Vitamin D	$15,22 \pm 14,70$	$5,82 \pm 10,68$	0,01
Dengan Vitamin D	$12,07 \pm 11,55$	$6,73 \pm 9,48$	0,07

Tabel 5.5. Hubungan status pemberian vitamin D dengan rerata kadar TNF- α setelah pengobatan OAT selama dua bulan

Status pemberian Vitamin D	Rerata TNF- α (pg/ml)	p value
Tanpa Vitamin D	$5,82 \pm 10,68$	0,76
Dengan Vitamin D	$6,73 \pm 9,48$	

5.4. Hubungan pemberian vitamin D dengan konversi sputum setelah pengobatan OAT selama satu bulan

Tabel 5.5. Hubungan pemberian Vitamin D dengan konversi sputum setelah pengobatan OAT satu bulan

Status Vitamin D	Konversi sputum		Total	p value
	BTA -	BTA +		
Tanpa Vitamin D	8 (36%)	14 (64%)	22	0,04
Dengan Vitamin D	14 (67%)	7 (33%)	21	
Total	22	21	43	

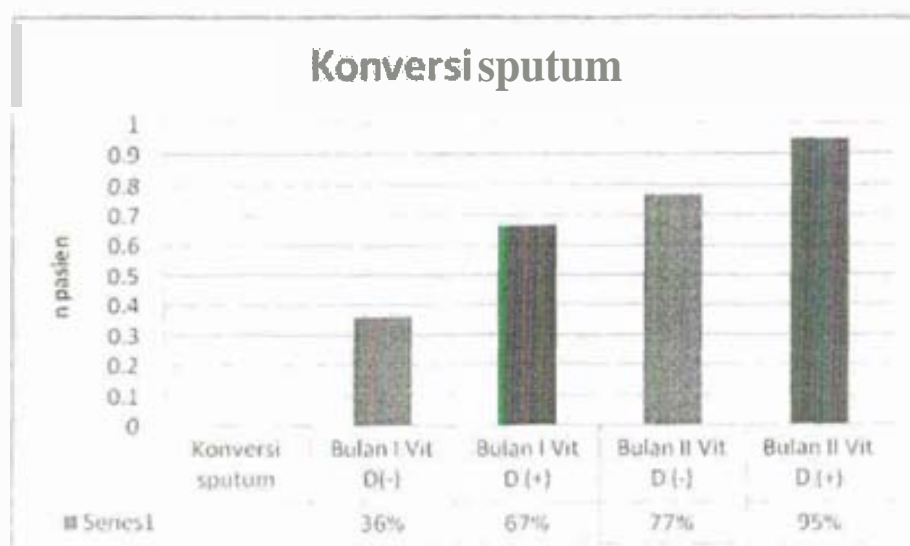
Tabel 5.5. menunjukkan hubungan yang bermakna antara pemberian Vitamin D dengan konversi sputum pada bulan pertama pengobatan OAT. Pada kelompok dengan vitamin D 67% terjadi perubahan status BTA menjadi negatif dibanding dengan kelompok tanpa vitamin D sebesar 36%, dengan p value 0,04.

5.5. Hubungan pemberian vitamin D dengan konversi sputum

Tabel 6.6. Hubungan pemberian vitamin D dengan konversi sputum setelah pengobatan OAT selama dua bulan

Status Vitamin D	Konversi sputum		Total	p value
	BTA -	BTA +		
Tanpa Vitamin D	17 (77%)	5 (23%)	22	0.18
Dengan Vitamin D	20 (95%)	1 (5%)	21	
Total	37	6	43	

Tabel 5.6. menunjukkan hubungan yang tidak bermakna antara pemberian vitamin D dengan konversi sputum pada bulan kedua pengobatan OAT. Pada kelompok dengan vitamin D 95% terjadi konversi sputum dibanding dengan kelompok tanpa vitamin D sebesar 77%, dengan p value 0,18.



Gambar 5.1: Perubahan sputum BTA konversi sputum pada kedua kelompok tuberkulosis.

5.6. Hubungan pemberian vitamin D dengan perbaikan radiologis setelah pengobatan OAT satu bulan.

Tabel 5.7. Hubungan pemberian vitamin D dengan perbaikan radiologis setelah pengobatan OAT satu bulan

Status pemberian Vitamin D	Foto toraks		Total	p value
	Membaik	Tetap		
Tanpa Vitamin D	4 (18%)	18 (82%)	22	0,002
Dengan Vitamin D	14 (67%)	7 (33%)	21	
Total	18	25	43	

Tabel 5.7. menunjukkan hubungan yang bermakna antara pemberian vitamin D dengan perbaikan radiologis pada bulan pertama pengobatan OAT. Pada kelompok dengan vitamin D 67% terjadi perbaikan radiologis dibanding dengan kelompok tanpa vitamin D sebesar 18%, dengan p value 0,002.

5.7. Hubungan pemberian vitamin D dengan perbaikan radiologis setelah pengobatan OAT dua bulan.

Tabel 5.8. Hubungan pemberian vitamin D dengan perbaikan radiologis setelah pengobatan OAT selama dua bulan

Status pemberian Vitamin D	Foto toraks		Total	p value
	Membaik	Tetap		
Tanpa Vitamin D	10 (45%)	12 (55%)	22	0.06
Dengan Vitamin D	16 (76%)	5 (24%)	21	
Total	26	17	43	



BAB VI. PEMBAHASAN

6.1. Karakteristik penderita

Pada penelitian eksperimental (*randomized controlled trial*) distribusi faktor - faktor yang diperkirakan mempengaruhi hasil penelitian harus atau sedapat mungkin terdistribusi yang sama pada kelompok yang mendapatkan perlakuan dan kelompok kontrol. Hal ini untuk menjaga agar kedua kelompok komparabel, dan diharapkan pengaruh perlakuan (pemberian vitamin D) terhadap konversi sputum dan perubahan foto toraks dapat ditentukan tanpa dipengaruhi oleh perbedaan variabel pengganggu yang lain. Beberapa variabel yang diduga berpengaruh terhadap konversi sputum dan perubahan gambaran foto toraks adalah : jenis kelamin, foto toraks sebelum pengobatan OAT, indeks massa tubuh, kadar vitamin D dan umur.

Tabel 5.1. menunjukkan lima variabel yang diperkirakan sebagai variabel pengganggu. Data menunjukkan lima variabel diatas terdistribusi secara merata pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Jenis kelamin sebesar 67% laki laki di kelompok yang tidak mendapatkan vitamin D dan 48% pada kelompok yang mendapatkan vitamin D. Hasil uji statistik dengan chi-kuadrat didapat p value 0,29. ini berarti bahwa tidak ada perbedaan jenis kelamin pada kelompok yang tidak mendapat vitamin D dan kelompok yang mendapat vitamin D.

Distribusi foto toraks yang dikelompokkan menurut derajat foto toraks berdasarkan " *American Thoracic Society*" dan " *National Tuberculosis Association*" juga terdistribusi merata pada kedua kelompok dengan p-value sebesar 0,16.

Distribusi indeks masa tubuh didapat rerata pada kelompok yang tidak mendapat vitamin sebesar $18,20 \pm 2,57$ (kg/m^2) dibanding dengan $17,98 \pm 2,73$ (kg/m^2) pada kelompok yang mendapat vitamin D. Dengan uji t - bebas didapat besar p value 0,78. Hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan indeks masa tubuh antara kedua kelompok. Hal yang menarik adalah pada kedua kelompok mempunyai indeks masa tubuh yang kurang dari dari indeks masa tubuh normal atau dapat dikatakan status gizi penderita tuberkulosis tidak baik. Indeks masa tubuh normal yaitu sama atau diatas $18,5 \text{ kg/m}^2$ (Soegondo, 2006).

Variabel umur diperkirakan juga akan mempengaruhi angka kesembuhan. Pada umur yang lebih tua maka kesembuhannya akan lebih lama. Distribusi rerata umur menunjukkan pada kelompok yang tidak mendapat vitamin D sebesar $33,68 \pm 9,32$ (th) dibanding dengan kelompok yang mendapat vitamin D sebesar $28,62 \pm 7,74$ (th). Dengan uji t-bebas didapat p value sebesar 0,06. Ini berarti tidak ada perbedaan umur antara kedua kelompok.

Variabel rerata kadar 25(OH)D diperkirakan juga akan mempengaruhi angka kesembuhan. Distribusi rerata kadar 25(OH)D menunjukkan pada kelompok yang tidak mendapat vitamin D sebesar $19,52 \pm 8,99$ (ng/ml) dibanding dengan kelompok yang mendapat

vitamin D sebesar $18,11 \pm 9,53$ (ng/ml). Dengan uji t-bebas didapat p value sebesar 0,62. Ini berarti tidak ada perbedaan rerata kadar 25(OH)D antara kedua kelompok dan kadarnya dibawah normal (defesiensi)

Keadaan diatas menunjukkan bahwa randomisasi perlakuan berjalan dengan baik sehingga variabel-variabel yang di perkirakan akan mempengaruhi hasil penelitian bisa dikendalikan dengan baik, sebab variabel-variabel diatas terdistribusi secara merata pada kedua kelompok.

6.2. Efek pemberian vitamin D terhadap peningkatan kadar 25(OH)D

Terjadi peningkatan kadar 25(OH)D setelah mendapatkan pengobatan OAT selama dua bulan baik pada kelompok tanpa vitamin D maupun pada kelompok dengan vitamin D. Pada kelompok tanpa vitamin D terdapat peningkatan rerata kadar 25(OH)D dari $18,11 \pm 9,53$ (ng/ml) menjadi $21,61 \pm 9,13$ (ng/ml) setelah pengobatan OAT dua bulan dengan p value 0,03. Hal ini menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara rerata kadar 25(OH)D sebelum dan sesudah pengobatan OAT dua bulan. Peningkatan itu mungkin disebabkan karena dengan pemberian OAT menyebabkan terjadi perbaikan klinis dan nafsu makan membaik sehingga berpengaruh juga terhadap peningkatan rerata kadar 25(OH)D.

Pada kelompok dengan vitamin D juga terjadi peningkatan rerata kadar 25(OH)D dari $19,52 \pm 8,99$ (ng/ml) menjadi $34,20 \pm 11,11$ (ng/ml) setelah pengobatan OAT selama dua bulan dengan p value 0,00. Peningkatan rerata kadar 25(OH)D ini jauh lebih besar dibandingkan

dengan kelompok tanpa vitamin D. Holick (2007) menentukan kadar 25(OH)D 30 – 60 ng/ml adalah normal, 20 – 29 ng/ml adalah insufisiensi, kurang dari 20 ng/ml adalah defisiensi. Pada penelitian ini rerata kadar 25(OH)D sebelum percobaan tergolong defisiensi (tabel 5.1). Pada kelompok tanpa vitamin D setelah pengobatan OAT dua bulan meskipun terjadi peningkatan kadar 25(OH)D tetapi masih tergolong insufisiensi, sedang pada kelompok dengan vitamin D rerata kadar 25(OH)D setelah pengobatan OAT dua bulan menjadi $34,20 \pm 1,1$ (ng/ml) yaitu tergolong normal (tabel 5.3). Holick (2007) menyebutkan pemberian vitamin D3 700 – 800 IU per hari dapat meningkatkan kadar 25(OH)D yang kurang dari 17 ng/ml menjadi sekitar 40 ng/ml.

Disebutkan pada literatur bahwa kadar 25(OH)D dibawah 20ng/ml (50nmol/L) yang disebut sebagai defisiensi, dan jika kadar 25(OH)D dibawah 30ng/ml (75nmol/L) dapat terjadi hambatan inisiasi monosit dan makrofag dalam respon sistem kekebalan bawaan (Holick, 2007), dan sangat diketahui bahwa makrofag alveoli merupakan populasi sel yang pertama berinteraksi dengan bakteri tuberkulosis (Palomino, 2007).

6.3. Ekk pemberian vitamin D terhadap perubahan kadar

TNF- α

Tabel 5.4. Setelah mendapatkan pengobatan selama dua bulan terjadi penurunan kadar TNF- α pada kedua kelompok. Penurunan TNF- α tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa kecepatan penyembuhan sesuai dengan kecepatan penurunan kadar TNF- α (Hseih

at al, 1999). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa penurunan TNF- α pada kelompok yang tidak dapat mendapatkan Vitamin D lebih tinggi dari kelompok yang mendapatkan Vitamin D. Keadaan ini tidak sesuai dengan hipotesis peneliti yang menyatakan bahwa pada penderita Tuberkulosis yang mendapatkan pengobatan suportif Vitamin D akan mempunyai kadar TNF- α yang lebih rendah dari kelompok yang tidak mendapatkan pengobatan suportif Vitamin D. Teori menyebutkan bahwa Vitamin D menghambat proliferasi dan diferensiasi Th1 dengan sitogen yang diproduksi seperti IFN-gamma dan IL-12 (Xiaoping, 2006). Pengaruh Vitamin D pada TNF- α ada dua pendapat : pada sel imatur seperti disussum tulang terjadi peningkatan TNF- α (Hakim, 2003), sedang pada sel matur seperti di monosit darah tepi pemberian Vitamin D akan menyebabkan penurunan TNF- α . Penjelasan ini yang dapat menerangkan mengapa hipotesis yang menyatakan bahwa pemberian Vitamin D dapat menurunkan kadar TNF- α lebih besar dari kelompok yang tidak mendapatkan Vitamin D tidak terbukti.

6.4. Pengaruh pemberian vitamin D pada konversi sputum dan perbaikan radiologis setelah pengobatan OAT-

Pada bulan pertama setelah pengobatan OAT kelompok penderita tuberkulosis yang tanpa vitamin D mengalami konversi sputum sebanyak 8 penderita (36%) dibandingkan dengan kelompok dengan vitamin D sebesar 14 penderita (67%) dengan p value 0,04 (Tabel 5.4). Terhadap perubahan foto toraks vitamin D juga mempunyai pengaruh yang bermakna dalam mempercepat atau meningkatkan perbaikan foto toraks.

Hasil penelitian menunjukkan kelompok penderita tuberkulosis tanpa vitamin D sebanyak 4 penderita (18%) terjadi perbaikan foto toraks, dibandingkan dengan kelompok dengan vitamin D sebanyak 14 penderita (67%) mengalami perbaikan foto toraks dengan p value 0,002 (Tabel 5.6). Keadaan diatas menunjukkan bahwa vitamin D dapat mempercepat atau meningkatkan kesembuhan penderita tuberkulosis yang sedang mendapatkan pengobatan standar tuberkulosis baik dari parameter konversi sputum maupun foto toraks. Kejadian diatas dapat dijelaskan karena vitamin D mempunyai kemampuan meningkatkan produksi cathelicidin di dalam sel makrofag dan cathelicidin merupakan peptida yang terbukti bisa mematikan *M.tuberculosis* (Adam, 2007). Selain kemampuannya meningkatkan cathelicidin vitamin D juga bisa meningkatkan produksi Nitric Oxide yang mempunyai peran yang penting di dalam mematikan *M.tuberculosis* melalui mekanisme fusi fago-lisosom (Rockett, 1998).

Pada bulan kedua setelah pengobatan OAT kelompok penderita tuberkulosis tanpa vitamin D sebanyak 17 penderita (77%) mengalami konversi sputum dibandingkan dengan kelompok penderita dengan vitamin D sebanyak 20 penderita (95%), p value 0,18. Besarnya konversi sputum (77%) pada kelompok tanpa vitamin D setelah mendapatkan pengobatan OAT selama dua bulan tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan Kusumastuti (2008) sebesar 79,17% dan menurut Rom Garay (2004) sebesar 75% setelah pengobatan dua bulan dan 96% setelah pengobatan 6 bulan. Penelitian yang dilakukan oleh Nursyam

(2006) yang memberikan vitamin D atau placebo pada 67 penderita tuberkulosis dengan terapi anti tuberkulosis selama 6 minggu; 100 % kelompok yang diberikan vitamin D terdapat perbaikan radiologis dan angka konversi sputum positif ke negatif dibanding dengan kelompok yang diberikan placebo (76,7%;p value 0,002). Dilihat dari angka prosentasi konversi sputum pada penelitian ini hasilnya hampir sama dengan penelitian oleh Nursyam, tetapi dalam penelitian ini hasil uji statistik tidak bermakna. Keadaan diatas mungkin disebabkan karena jumlah sampel pada penelitian ini lebih kecil daripada jumlah sampel penelitian Nursyam. Walaupun dari hasil uji statistik terhadap perbedaan konversi sputum tidak bermakna, tetapi angka absolut menunjukkan perbedaan yang cukup besar yaitu 96% kelompok dengan vitamin D mengalami konversi sputum dibanding dengan kelompok tanpa vitamin D dengan konversi sputum sebesar 77%. Hasil konversi sputum pada kelompok dengan vitamin D sebesar 95% hampir sama dengan hasil penelitian konversi sputum Rom&Garay sebesar 96% setelah pengobatan selama 6 bulan. Keadaan diatas menunjukkan bahwa vitamin D bisa mempercepat konversi sputum. Sebagai klinikus perbedaan angka konversi dan percepatan konversi sputum sangat penting dalam menurunkan potensi penularan tuberkulosis ke orang bin. Terhadap perbaikan foto toraks hasil penelitian menunjukkan kelompok penderita tanpa vitamin D sebesar 10 penderita (45%) mengalami perbaikan foto toraks dibandingkan dengan kelompok penderita dengan vitamin D sebanyak 16 (76%) dengan p value 0,06 (Tabel 5.7). Mengecilnya perbedaan konversi sputum dan perbaikan

radiologis kedua kelompok penelitian pada bulan kedua setelah pengobatan OAT dibanding dengan satu bulan setelah pengobatan OAT disebabkan oleh efek bakterisidal dan bakteriostatik OAT sendiri (Alsagaff, 2002). Diprediksikan setelah pengobatan OAT selama 6 bulan antara kedua kelompok penelitian akan makin kecil perbedaan konversi sputum. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin D bisa meningkatkan kesembuhan penderita tuberkulosis baik dengan parameter konversi sputum maupun foto toraks.



BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

1. Pemberian Cholecalciferol 800 IU per hari selama dua bulan bisa meningkatkan kadar 25(OH)D serum lebih tinggi dari kelompok tanpa vitamin D.
2. Kelompok yang mendapatkan pengobatan suportif Vitamin D selama dua bulan mempunyai kadar TNF- α yang lebih tinggi dari kelompok yang tidak mendapatkan Vitamin D.
3. Pemberian pengobatan suportif vitamin D pada penderita tuberkulosis bisa meningkatkan secara bermakna angka konversi sputum dan perbaikan radiologis setelah satu bulan pengobatan.
4. Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok dengan vitamin D dan kelompok tanpa vitamin D terhadap konversi sputum dan perbaikan foto toraks setelah dua bulan pengobatan.
5. Pengobatan suportif vitamin D bisa mempercepat konversi sputum dan perbaikan foto toraks setelah pengobatan satu bulan maupun dua bulan.

7.2. Sawn

1. Memberikan pengobatan suportif vitamin D pada penderita tuberkulosis yang mendapatkan pengobatan tuberkulosis standar.
2. Melakukan penelitian untuk mengetahui peran vitamin D dalam upaya pencegahan terhadap penyakit tuberkulosis.



DAFTAR PUSTAKA

- Adams J; Liu P; Geffen D; 2007. Vitamin D in Defense of The Human Immune Response. *Annals of the New York Academy of Science. Skeletal Biology and Medicine*, New York: 1 – 18.
- Adorini L. (2002). Immunomodulatory effects of vitamin D receptor ligands in autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol* 2, 1017-1028
- Altare, F., A. Ensser, A. Breiman, J. Reichenbach, J. E. Baghdadi, A. Fischer, J. F. Emile, J. L. Gaillard, E. Meinf, and J. L. Casanova. (2001). Interleukin-12 receptor beta1 deficiency in a patient with abdominal tuberculosis. *J. Infect. Dis.* 184:231–236.
- Anonymous. 2007. Lembar Fakta Tuberkulosis ([http://tbcindonesia.or.id/TB Fachsheet Indonesia rev.NTP final_220307.pdf](http://tbcindonesia.or.id/TB_Fachsheet_Indonesia_rev.NTP_final_220307.pdf), Diakses 12 Desember 2007)
- Crevel RV; Ottenhoff THM; Van der Meer JWM; (2002). Innate Immunity to Mycobacterium Tuberculosis. *Clinical Microbiology Review*, Netherlands. 15,2: 294 – 309.
- Dusso AS, Brown AJ & Slatopolsky E (2005) Vitamin D. *Am J Physiol* 289, F8–F23.
- Giovannini L, Panichi V, Migliori M, De Pietro S, Bertelli AA, Fulgenzi A, Filippi C, Sarnico I, Taccola D, Palla R & Bertelli A (2001) 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) dose dependently inhibits LPS-induced cytokines production in PBMC modulating intracellular calcium. *Transplant Proc* 33, 2366–2368.
- Griffin MD, Xing N & Kumar R (2003) Vitamin D and its analogs as regulators of immune activation and antigen presentation. *Annu Rev Nutr* 23, 117–145.

Hakim I & Bar-Shavit Z (2003) Modulation of TNF- α expression in bone marrow macrophages: involvement of vitamin D response element. *J Cell Biochem* 88, 986–998.

Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SM, Dominguez CE & Jurutka PW (1998) The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res* 13, 325–349.

Holick MF, 2007. Vitamin D Deficiency. *N England J Medicine*, Boston; 357 : 266 – 81.

Hsieh, S. M., C. C. Hung, M. Y. Chen, W. H. Sheng, and S. C. Chang. 1999. Dynamics of plasma cytokine levels in patient with advanced HIV infection and active tuberculosis: implications for early recognition of patient with poor response to anti-tuberculosis treatment. *AIDS*. 13:935-941

Kindler, V., A P. Sappino, G. E. Grau, P. F. Piguet, and P. Vassalli. (1989). The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell* 56:731–740.

Lin, Y., M. Zhang, F. M. Hofman, J. Gong, and P. F. Barnes. (1996). Absence of a prominent Th2 cytokine response in human tuberculosis. *Infect. Immun.* 64:1351–1356

Liu PT; Stenger S; Li Huiyeng.,2006. Toll-Like Receptor Triggering of a Vitamin D-Mediated Human Antimicrobial Response. *Sciencexpress. /www.Sciencexpress.org/23 February 2006/Page 1/10.1126/science.1123933.*

Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto SH. 1995. *Perkiraan Besar Sampel dalam Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. PT Binarupa Aksara. Jakarta: 187 – 212.*

- Marcinkowska E.(2001) A run for a membrane vitamin D receptor. *Biol Signals Recept* 10, 341-349
- Mathieu C, Adorini L.(2002) The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med* 8, 174-179
- Moreira AL, Tsenova-Berkova L, Wang J, Laochumroonvorapong P, Freeman S, Freedmen VH, (1997). Effect of cytokine modulation by thalidomide on the granulomatous response in murine tuberculosis. *Tuberc Lung Dis* ; 76 : 47-55.
- Ottenhof TH, Kumararatne D, Casanova JL (1998). Novel human immunodeficiencies reveal the essential role of type-1 cytokines in immunity to intracellular bacteria. *Immunol Today* ; 19: 491-4.
- Pardosi JF. 2007. Tuberculosis di Indonesia. (www.litbang.depkes.go.id). Diakses 12 Desember 2007
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2006. Tuberkulosis : Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia. Indah Offset Citra Grafika, Jakarta: 5 – 40.
- Penna G & Adorini L (2000) 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol* 164, 2405-2411
- Provvedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ & Manolagas SC (1983) 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science* 221, 1181-1183.
- Raja A.(204). Immunology of tuberculosis in Indian *J Med Res* 120, October : 213 – 32.

Rockett KA, Brookes R, Udalova I, Vidal V, HH AV & Kwiatkowski D (1998) 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces nitric oxide synthase and suppresses growth of Mycobacterium tuberculosis in a human macrophage-like cell line. Infect Immun 66, 5314–5321.

Rigby WF, Denome S & Fanger MW.1987. Regulation of lymphokine production and human T lymphocyte activation by 1,25- dihydroxyvitamin D₃. Specific inhibition at the level of messenger RNA.J Clin Invest 79, 1659-1664

Siswanto;Setijowati N; Zuhriyah L; Abijoso, 2005. Pengembangan Model Pelayanan Pengobatan Tuberkulosis untuk Menurunkan Angka Putus Berobat Penderita Tuberkulosis di RSUD dr. Saiful Anwar Malang: Studi Eksperimental. Jurnal Epidemiologi Indonesia, vol 7 edisi I: 7 – 12.

Schluger N.W, Rom W.N. (1998). The Host Immune Response to Tuberculosis in Am J Respir Crit Care Med Vol 157: 679 – 91.

Tomansinsig L; Zanetti M, 2005. The cathelicidins – Structure, Function and Evolution. Current Protein and Peptide Science, Italy. 6: 23 – 34,

Veldman CM, Cantorna MT & DeLuca HE (2000) Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. Arch Biochem Biophys 374, 334–338.

Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, Tavera-Mendoza L, Lin R, Hanrahan JW, Mader S & White JH (2004) Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. J Immunol 173, 2909–2912.

Xiao-ping Qi, Pei Li, Gang Li et al (2008). 1,25-dihydroxyvitamin D regulates LPS-induced cytokine production and reduces mortality in rats. World Journal of Gastroenrerology 14(24), 3897-3902.

38

Lampiran 2

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama :

Umur :

Alamat:

Dengan ini menyatakan bersedia mengikuti penelitian yang akan dilakukan **dr. Siswanto, MSc** berjudul Pengaruh pengobatan suportif vitamin D terhadap konversi sputum dan perbaikan radiologis penderita tuberkulosis paru.

Saya telah mendapatkan penjelasan baik secara lisan maupun tulisan mengenai penelitian ini dan sudah mengetahui/mengerti tujuan penelitian dan latihan yang akan saya lakukan disertai dengan resiko dan keuntungannya.

Saya mengerti bahwa saya dapat mengundurkan diri setiap saat sebagai peserta penelitian tanpa ada konsekuensi.

Malang,

2009

Peneliti

Pembuat Pernyataan,

(dr. Siswanto, MSc)

(.....)

Saksi :

1.

2.

Lampiran 3

Uji Chi-Kuadrat Jenis Kelamin

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Code * Sex	43	100,0%	0	,0%	43	100,0%

Code * Sex Crosstabulation

Count		Sex		Total
		Laki	Perempuan	
Code	Vitamin D negatif	14	8	22
	Vitamin D positif	10	11	21
Total		24	19	43

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig (2-sided)	Exact Sig (2-sided)	Exact Sig (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,118(b)	1	,290		
Continuity Correction(a)	,563	1	,453		
Likelihood Ratio	1,122	1	,289		
Fisher's Exact Test				,364	,227
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,28.

Lampiran 4

Uji T-Bebas Umur

Group Statistics

Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Umur Vitamin D negatif	22	33,27	9,145	1,950
Vitamin D positif	21	28,81	7,521	1,641

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		Lower	Upper
Umur	Equal variances assumed	1,057	,303	1,743	41	,089	4,463	2,560		-,707	9,634
	Equal variances not assumed			1,751	40,141	,088	4,463	2,549		-,687	9,613

Uji Chi-Kuadrat Gambaran Foto toraks

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Code * Trx	43	100,0%	0	,0%	43	100,0%

Code * Trx Crosstabulation

		Trx				Total
		Normal	Minimal	Moderate	Advance	
Code	Vitamin D negatif	0	2	3	17	22
	Vitamin D positif	1	2	6	10	21
Total		1	4	11	27	43

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5,067 ^a	3	,167
Likelihood Ratio	5,557	3	,135
N of Valid Cases	43		

a. 4 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,49.

Lampiran 5

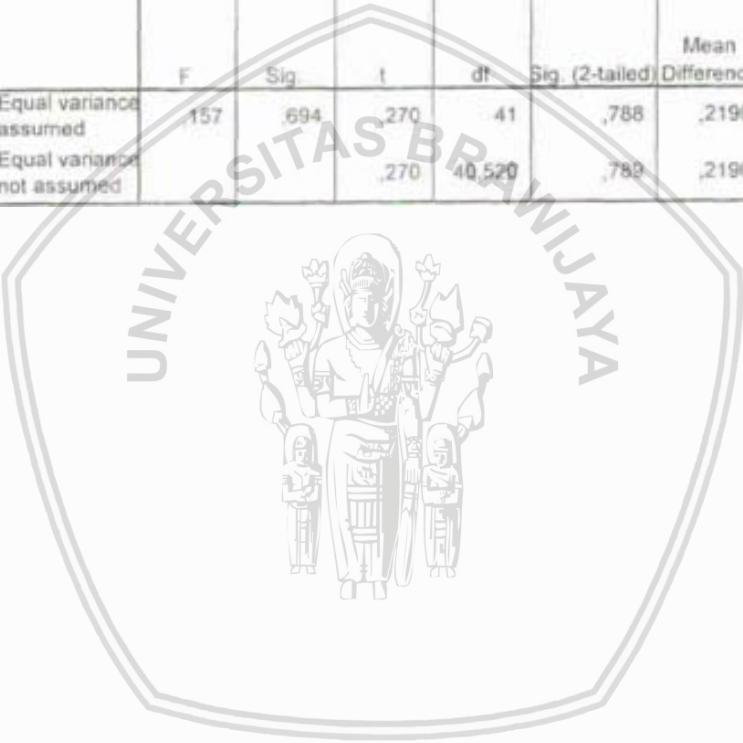
Uji T-Bebas Indeks Massa Tubuh sebelum pengobatan

Group Statistics

	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BMI	Vitamin D negatif	22	18,200	2,5748	,5488
	Vitamin D positif	21	17,983	2,7376	,5974

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
BMI	Equal variance assumed	.157	.694	.270	41	.788	.2190	.8101	-1.4170	1.8551
	Equal variance not assumed			.270	40.520	.789	.2190	.8113	-1.4200	1.8581



Lampiran 6

Uji Chi-Kuadrat konversi sputum pada Bulan Pertama

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Code * KonversiA	43	100,0%	0	,0%	43	100,0%

Code * KonversiA Crosstabulation

Count		KonversiA		Total
		Konversi positif	Konversi negatif	
Code	Vitamin D negatif	8	14	22
	Vitamin D positif	14	7	21
Total		22	21	43

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,949 ^a	1	,047		
Continuity Correction ^b	2,829	1	,093		
Likelihood Ratio	4,013	1	,045		
Fisher's Exact Test				,059	,046
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 10,26.

Lampiran 7

Uji Chi-Kuadrat Konversi Sputum bulan kedua

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Code * KonversiB	43	100,0%	0	,0%	43	100,0%

Code * KonversiB Crosstabulation

Count

		KonversiB		Total
		Konversi positif	Konversi negatif	
Code	Vitamin D negatif	17	5	22
	Vitamin D positif	20	1	21
Total		37	6	43

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,688 ^a	1	,089		
Continuity Correction ^b	1,588	1	,208		
Likelihood Ratio	3,131	1	,077		
Fisher's Exact Test				,185	,103
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,93

Lampiran 8

Uji Chi-Kuadrat Perbaikan Gambaran Radiologis Bulan Pertama

Case Processing Summary

	Cases					
			Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Code * TrxA	43	100,0%	0	,0%	43	100,0%

Code * TrxA Crosstabulation

Count		TrxA		Total
		Membaik	Tetap atau memburuk	
Code	Vitamin D negatif	4	18	22
	Vitamin D positif	14	7	21
Total		18	25	43

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	10,378 ^a	1	,001		
Continuity Correction ^b	8,481	1	,004		
Likelihood Ratio	10,670	1	,001		
Fisher's Exact Test				,002	,002
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,79.

Lampiran 9

Uji Chi-Kuadrat Perbaikan Gambaran Radiologis Bulan Kedua

Case Processing Summary

	Cases ^a					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Code * TrxB	43	100,0%	0	,0%	43	100,0%

Code * TrxB Crosstabulation

Count		TrxB		Total
		Membalik	Tetap atau memburuk	
Code:	Vitamin D negatif	10	12	22
	Vitamin D positif	16	5	21
Total		26	17	43

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,245 ^a	1	,039		
Continuity Correction ^b	3,058	1	,080		
Likelihood Ratio	4,344	1	,037		
Fisher's Exact Test				,062	,039
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,30.

Lampiran 10

Uji T-bebas Indeks Masa Tubuh pada Bulan Kedua

Group Statistics

	Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BMIIb	Vitamin D negatif	22	18,455	2,9387	,6265
	Vitamin D positif	21	18,848	3,0270	,6605

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		Lower	Upper
BMIIb	Equal variance assumed	,211	,648	-,000	41	,668	-,3931	,9098		-2,2304	1,4443
	Equal variance not assumed			-,000	32,40757	,668	-,3931	,9104		-2,2320	1,4459

Uji T-berpasangan IMT kelompok tanpa vitamin D sebelum dan sesudah pengobatan OAT dua bulan

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BMIIA	18,200	22	2,5748	,5489
	BMIIIA	18,455	22	2,9387	,6265

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 BMIIA & BMIIIA	22	,978	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	BMIIA - BMII	-.2545	.6864	.1463	-.5589	.0498	-1,739	21	.097

Uji T-berpasangan IMT kelompok dengan vitamin D sebelum dan sesudah pengobatan OAT dua bulan

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BMIIB	17,981	21	2,7376	,5974
	BMIIB	18,848	21	3,0270	,6605

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	BMIIB & BMIIB	21	,959	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences							
					95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper	t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	BMIIB - BMIIB	,867	,6737	,1907	-,2644	,14690	-4,546	20	,000



Lampiran 11

Uji T-Bebas pada Kadar 25(OH)D Pra Temp

Group Statistics

Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VitdA Vitamin D negatif		18,1103	9,52765	2,03130
Vitamin D positif	21	19,5234	8,99184	1,96218

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VitdA	Equal variances assumed	.000	.931	-.500	41	.620	-.141315	2.82813	-7.12468	4.29838
	Equal variances not assumed			-.500	40.996	.619	-.141315	2.82424	-7.11684	4.29054

Uji T-Bebas pada Kadar 25(OH)D dua Bulan Post Penelitian

Group Statistics

Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VitdB Vitamin D negatif	22	21,8087	9,12066	1,94586
Vitamin D positif	21	34,2047	11,11084	2,42454

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Vast	Equal variances assumed	.626	.434	-4.070	41	.000	-12.59602	3.09447	-18.84543	-6.34662
	Equal variances not assumed			-4.052	38.751	.000	-12.59602	3.10882	-18.88550	-6.30655

Lampiran 12

Uji T-Berpasangan Kadar 25(OH)D pada Kelompok Tanpa Vitamin D

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	VitDIA	18,1103	22	9,52765	2,03130
	VitDIIA	21,6067	22	9,12688	1,94586

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 VitDIA & VitDIIA	22	,707	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	VitDIA - VitDIIA	-3,49645	7,15124	1,52465	-6,66913	-,32377	-2,295	21	,032

Uji T-Berpasangan Kadar 25(OH)D pada Kelompok dengan Vitamin D

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	VitDIB	19,5234	21	8,99184	1,96218
	VitDIIB	34,2047	21	11,11064	2,42454

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 VitDIB & VitDIIB	21	,373	,095

Paired Samples Test

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	VitDIB - VitDIIB	-14,68132	11,38735	2,48492	-9,86479	-19,49786	-5,908	20	,000

```
'EST' GROUPS=Code ('A' 'B')
'MISSING=ANALYSIS
'VARIABLES=TNFO
'CRITERIA=CI (.95).
```

Test

itaSet1] D:\Data S3\TNFHIBAH\SPSS hibah.sav

Group Statistics

Code	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Vitamin D negatif	22	15.2273	14.70455	3.13502
Vitamin D positif	21	12.0794	11.55021	2.52046

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
NFO	Equal variances assumed	.318	.576	.778	41
	Equal variances not assumed			.783	39.565

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means		
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
NFO	Equal variances assumed	.441	3.14791	4.04533
	Equal variances not assumed	.439	3.14791	4.02257

Independent Sam* Test

		t-test for Equality of Means	
		95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper
NFO	Equal variances assumed	-5.02180	11.31762
	Equal variances not assumed	-4.98480	11.28051

```
TEST PAIRS=TNFIB WITH TNFIIB (PAIRED)
/CRITERIA=CI(.9500)
/MISSING=ANALYSIS.
```

Test

ataSet1] D:\Data S3\TNFHIBAH\SPSS hibah.sav

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
air 1	TNFIB	12.0794	21	11.55021	2.52046
	TNFIIB	6.7381	21	9.48282	2.06932

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
air 1	TNFIB & TNFIIB	21	.288	.241

Paired Samples Test

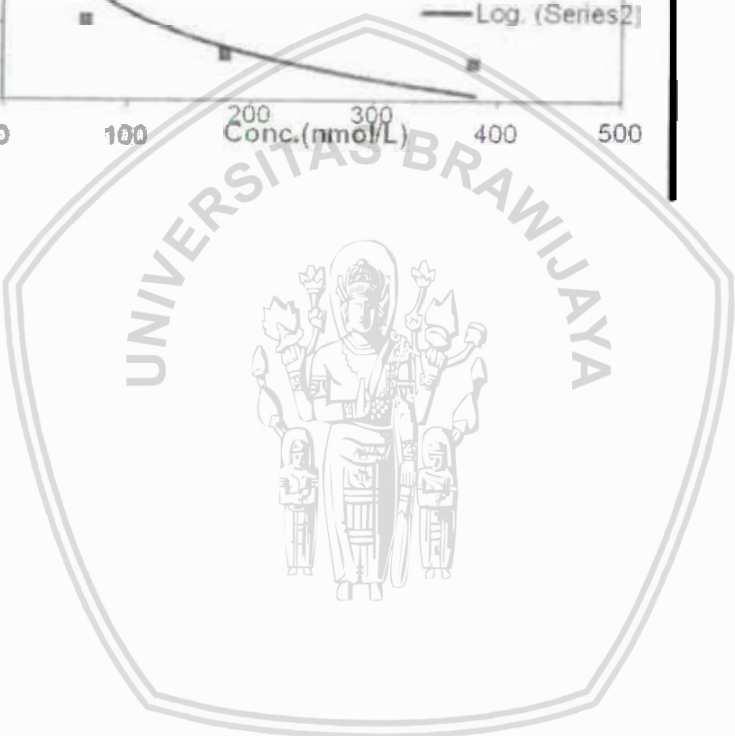
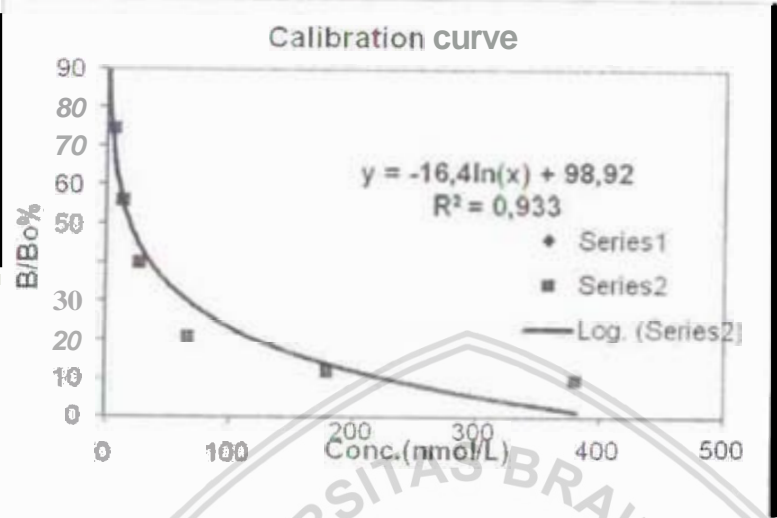
		Paired Differences				
					95% Confidence Interval of the Difference	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper
air 1	TNFIB - TNFIIB	5.34127	12.83447	2.80071	-.50091	11.18345

Paired Samples Test

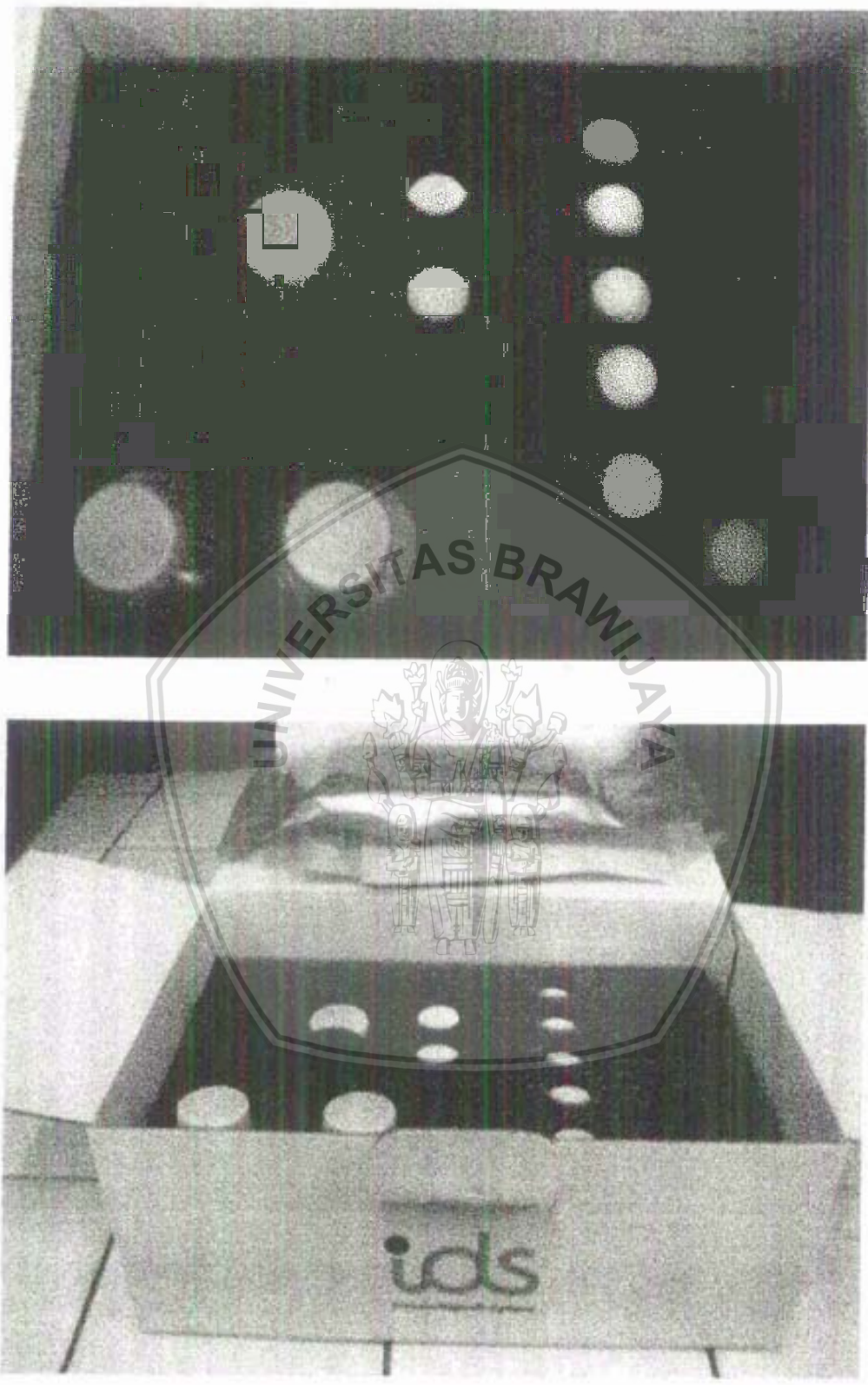
		t	df	Sig. (2-tailed)
air 1	TNFIB - TNFIIB	1.907	20	.071

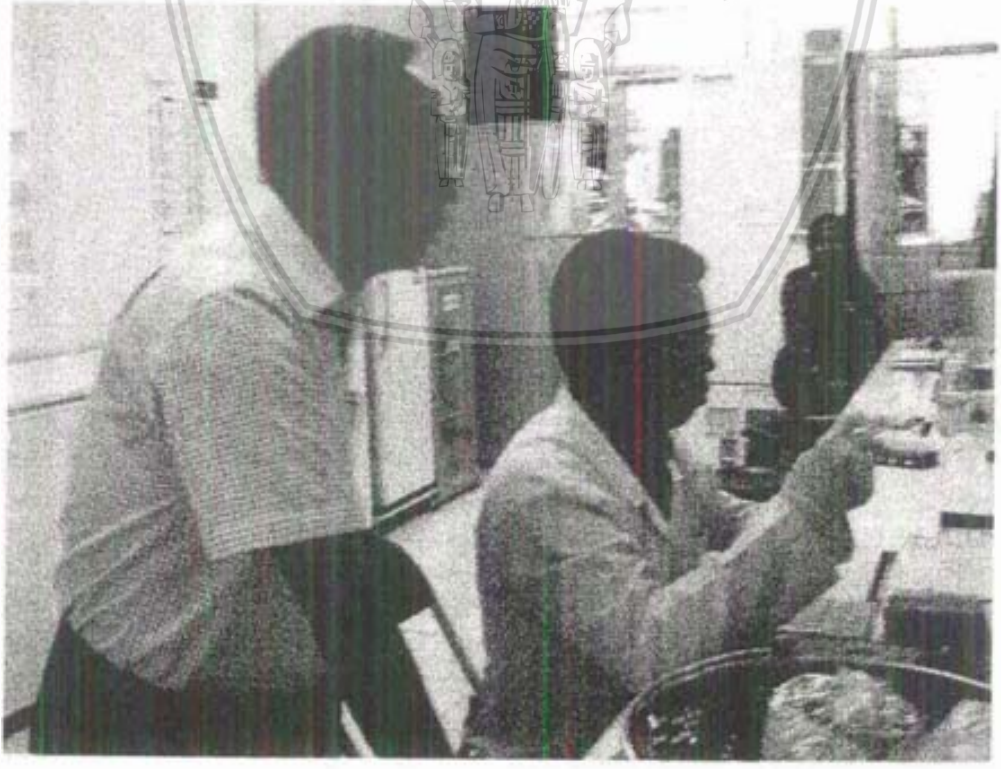
Lampiran 13

Kurva Kalibrasi Kadar 25(OH)D



Lampiran 14







1000458

